Dr. W. Lenz

Medizinisch-chemische ersuchungen für Apotheker

Anleitung zu medizinisch-chemischen Untersuchungen für Apotheker.

Von

Dr. Wilhelm Lenz,

Oberstabsapotheker im Kriegsministerium a. D.
Nahrungsmittelchemiker in Berlin.

Mit 12 in den Text gedruckten Abbildungen.



Berlin.
Verlag von Julius Springer.
1907.

Druck der Kgl. Universitätsdruckerei von H. Stürtz in Würzburg.

Herrn Professor Dr. H. Thoms

dankbar gewidmet.

Vorwort.

Auf Veranlassung des Herrn Professor Dr. H. Thoms werden im Pharmazeutischen Institute der Universität Berlin Übungen in medizinisch-chemischen Untersuchungen abgehalten, mit deren Leitung der Unterzeichnete betraut ist. Bei der Auswahl, Zusammenstellung und Durcharbeitung des umfangreichen Gebietes für diese Übungen kamen mir etwa dreißigjährige Erfahrungen in der praktischen Ausführung der einschlägigen Untersuchungen zu statten. An der Hand dieser Erfahrungen glaube ich alles das ausgewählt zu haben, was tatsächlich im Apothekenbetriebe verlangt wird und geleistet werden kann. Das Ergebnis meiner Arbeit bildet den Inhalt der vorliegenden Blätter. Vorausgesetzt sind die Kenntnisse der qualitativen und quantitativen Analyse, die zur Zeit in der pharmazeutischen Hauptprüfung verlangt werden. Die einzelnen Abschnitte sind jedoch durchaus selbständig bearbeitet; der Leser soll Zweck und Ziel der betreffenden Aufgabe erfassen, sie im Sinne der heutigen Wissenschaft verstehen lernen und so mit Verständnis zur Anwendung derjenigen Untersuchungs-Verfahren schreiten, die seinem Sonderfalle entsprechen. Die Beschreibung der einzelnen Verfahren soll ein selbständiges Arbeiten ermöglichen. Allgemein Bekanntes ist nicht wiederholt, dagegen sind schwierigere Stellen ausführlicher begründet und, wo die Erfahrung es gebot, mit Beispielen erläutert. Das gilt z. B. für die Beschreibung des Nonius, der gewöhnlich nicht oder unverständlich erklärt wird, für die Berechnung von Dextrose und Lävulose aus den Ergebnissen der polarimetrischen und titrimetrischen Bestimmung und für anderes mehr. Dadurch ist freilich eine gewisse Ungleichheit in der Behandlung des Stoffes entstanden; ich glaubte jedoch meinen Zu-

hörern bei den Vorlesungen — und jetzt den Lesern dieses Buches – den Stoff so vortragen zu müssen, daß ihnen das volle Verständnis leicht gemacht wird. Dieser Nützlichkeits-Standpunkt ist auch maßgebend gewesen für die allgemeine Einteilung und Anordnung des Stoffes. Überall war ich bestrebt das Interessantere und Wichtigere zuerst zu behandeln, um dann auf das minder Wichtige überzugehen und auch für dieses Interesse zu erwecken.

Von einer ausführlicheren Anleitung zur Absorptions-Spektralanalyse ist abgesehen worden, weil diese Arbeiten in Apothekenlaboratorien selten oder nie ausgeführt werden. Dagegen ist die Anwendung des Mikroskopes, insbesondere zur Zählung von Blutkörperchen, mit in den Kreis der Untersuchungen gezogen worden, obgleich das Mikroskop mehr ein physikalisches als ein chemisches Hilfsmittel ist. Ein besonderer Abschnitt ist der zur Zeit in medizinischen Kreisen so sehr beliebten Kryoskopie gewidmet. Das war durch die wachsende Wichtigkeit der physikalisch-chemischen Verfahren bei Untersuchungen geboten, und ich glaubte als früherer Assistent des Herrn Geheimrat Prof. Dr. Beckmann auch dessen erprobte Methoden hochhalten und in ihrer neuesten Form verbreiten zu sollen.

In diesen Umrissen war es mein Bestreben, nur Erprobtes und das in knapper, leicht verständlicher Darstellung zu geben. Das Ganze habe ich versucht in lesbare, anregende Form zu kleiden. Die so entstandene Anleitung zu medizinisch-chemischen Untersuchungen ist schließlich noch ergänzt worden durch einen Abschnitt über die Behandlung von Aufträgen zu chemischen Untersuchungen und deren Erledigung, und ich hoffe, daß dieser Abschnitt die Billigung erfahrener Fachmänner finden wird.

Berlin, im August 1907.

Dr. Wilhelm Lenz.

Inhaltsverzeichnis.

I. Einleitung.

Unter den chemisch-analytischen Aufgaben, deren Lösung das Vertrauen der Auftraggeber auch noch heutzutage mit Vorliebe dem Apotheker zuweist, sind in erster Linie die Untersuchungen für ärztlich-diagnostische Zwecke zu nennen. Der Arzt will wissen, ob die natürlichen Verrichtungen einer von ihm beratenen Person in Ordnung sind, und deshalb läßt er die Ergebnisse dieser natürlichen Verrichtungen untersuchen. Dabei handelt es sich entweder um den Nachweis von Bestandteilen, die bei Gesunden nicht gefunden werden und um deren Bestimmung oder um die Bestimmung normaler Bestandteile ihrer Menge nach. Daß man aus derartigen Ermittelungen und Bestimmungen wertvolle Schlüsse ziehen kann, ergibt sich aus einigen Betrachtungen über den Stoffwechsel.

Alles Leben kennzeichnet sich durch die Umsetzung chemischer Spannkraft in lebendige Kraft. Der Körper nimmt als Nahrung eine Anzahl Stoffe auf und verarbeitet sie in seinem Innern, indem er seinen eigenen Leib aus ihnen bildet und das dazu Ungeeignete wieder abscheidet. Aber schon hierbei und noch weit mehr bei den anderen Kraftleistungen des Körpers findet ein Zerfall von Körperbestandteilen statt. Jede Äußerung der Lebenstätigkeit geschieht auf Kosten des Körpers, dessen Bestandteile zerfallen. Durch den Zerfall wird Wärme und Kraft erzeugt, die chemische Energie setzt sich in mechanische Leistung um; Aufbau und Zerfall des leben-

digen Körpers sind untrennbar miteinander verknüpft, Zerfall und Aufbau bedingen das Leben. Die Ergebnisse des Zerfalles aber müssen aus dem Körper abgeschieden werden, wenn der Lebensvorgang nicht ins Stocken geraten soll, und das geschieht denn auch in ganz gesetzmäßiger Weise. Für das menschliche Leben wie für das der Tiere notwendig sind: der Sauerstoff der Luft, Wasser, Mineralstoffe, Eiweißstoffe, Kohlehydrate und Fette; das sind die Nahrungsmittel. Als Kohlensäure, Harnstoff (Harnsäure, Kreatinin usw.) werden sie unter vermittelnder Begleitung des Wassers und der Mineralstoffe wieder ausgeschieden. Im allgemeinen kann man sagen, daß Kohlehydrate und Fette in erster Linie zur Bildung von Wärme und Kraft dienen. Sie werden als Kohlensäure durch die Atmung ausgeschieden; man nennt sie daher auch respiratorische Nahrungsmittel. Eiweißstoffe und Mineralstoffe bauen den Körper auf; man bezeichnet daher namentlich die Eiweißstoffe als körperbildende Stoffe. Beim Zerfall erscheint der gesamte Stickstoffgehalt der Nahrung wieder in den Ausscheidungen und zwar seiner überwiegenden Menge nach im Harne in Form von Harnstoff (Harnsäure usw.).

Wir sehen hier von den gasförmigen Ausscheidungen des menschlichen Körpers ab, ebenso von den nebensächlichen oder nur zeitweisen Ausscheidungen, wie sie Hornhaut und Schleimhäute, sowie einzelne Drüsen (Tränendrüsen, Milchdrüsen u. a.) geben, und beschäftigen uns mit den hauptsächlichsten, den Verlauf des Lebensvorgangs kennzeichnenden Ausscheidungen. Das sind Harn und Kot. Während der Kot seiner Hauptmenge nach die für den Aufbau und die Kraftleistungen nicht verwendeten Bestandteile der Nahrung enthält, finden wir im Harne hauptsächlich die Ergebnisse des Stoffwechsels vor, und dieser Umstand verleiht der Unter-

suchung des Harnes ihre hohe Bedeutung. Sie ist in der Tat die wichtigste und meist ausgeführte physiologisch-chemische Untersuchung.

II. Untersuchung des Harnes.

Allgemeines. Der Stickstoffgehalt der Eiweißnahrung erscheint zum allergrößten Teile im Harne als Harnstoff und Harnsäure, daneben treten dauernd einige andere Verbindungen in geringer Menge auf. Nach dem Genusse bestimmter Stoffe erscheinen im Harne deren Umwandlungserzeugnisse, so nach dem Genusse von Benzoësäure die Hippursäure usw. Bei Störungen der Umsetzungsvorgänge erscheinen jedoch im Harne Stoffe, deren Nachweis die wertvollsten Hinweise auf die betreffende Störung — die sonst vielleicht kaum erkennbar sein würde — bieten kann. Es ist jedoch möglich, daß diese vom Chemiker besonders gesuchten Stoffe nur in einzelnen Partieen des gelassenen Harns — im Morgenharne oder im Nachmittagsharne, nach den Mahlzeiten, vielleicht sogar nur unregelmäßig — auftreten. Deshalb ist es hier wie bei jeder anderen Untersuchung wichtig, eine gute Durchschnittsprobe zu verwenden. Das geschieht, indem man die gesamte Harnentleerung von 24 Stunden sammeln läßt, ihre Menge feststellt und dann erst die erforderlichen Untersuchungen und Bestimmungen vornimmt. Unumgänglich ist diese Probenahme für Stoffwechseluntersuchungen, bei denen das Gleichgewicht zwischen Stickstoff-Einnahme und -Ausgabe, die Gesamtmenge des im Körper gebildeten Zuckers oder dergleichen festgestellt werden soll. Neigt der Harn zur Zersetzung, so kann man ihn durch Zugabe einiger Tropfen Chloroform oder Toluol, eines Stückchens Kampher oder Thymol zum erstgelassenen Teile in der Regel für die Untersuchung geeignet erhalten.

Menge und Beschaffenheit des in 24 Stunden gelassenen Harns sind großen Schwankungen unterworfen, während die Menge der im Verlaufe derselben Zeit im Harne abgesonderten festen Stoffe ziemlich gleichbleibend ist, besonders bei gleichmäßiger Lebensweise. Bei starker Sommerhitze kann die 24-stündige Harnmenge auf 400 ccm herabsinken, nach reichlichem Wassergenuß bis 3000 ccm steigen. Ein gesunder erwachsener Mann entleert durchschnittlich etwa 1500 ccm, ein Weib etwa 1200 ccm Harn. Die Menge der damit abgeschiedenen festen Stoffe wird gewöhnlich auf 60 g geschätzt. Annähernd kann man die Menge der festen Stoffe im Harne aus seinem spezifischen Gewichte berechnen, indem man nach Häser die zweite und dritte Dezimalstelle des spezifischen Gewichtes mit der Konstante 2,33 multipliziert. Das Produkt ergibt die Menge der festen Stoffe in 1 l Harn.

Die Menge des in 24 Stunden gesammelten Harns wird entweder in einem Meßzylinder oder genauer mit Hilfe einer Wage bestimmt, die 1 g Gewichtsunterschied noch gut angibt. Das spezifische Gewicht des Harns wird mittelst Pyknometer oder mit der Mohr-Westphalschen Wage oder in anderer geeigneter Weise bestimmt. Am bequemsten sind die kleinen Urometerspindeln, von denen die eine für leichteren Harn vom spezifischen Gewichte 1,000 bis 1,020, die andere für schwereren, vom 1,020 bis 1,040 dient. Solche Spindeln sind gewöhnlich auf eine Temperatur von 17,5° C geeicht. Diese Temperatur ist einzustellen. Will man die Einstellung vermeiden, so kann man das abgelesene spezifische Gewicht in der Weise korrigieren, daß man für je 3°, um welche die Temperatur zu hoch ist, zu der Urometerablesung 0,001 hinzuzählt, bei zu niedriger Temperatur abzieht. Die Spindel muß ganz frei in der Flüssigkeit schweben.

Das Ablesen nimmt man vor, indem man unter dem Meniskus an dem Flüssigkeitsspiegel entlang visiert und die Stelle abliest, wo der Flüssigkeitsspiegel die Skala schneidet.

Der Harn wird nunmehr auf seine Beschaffenheit geprüft. Die Farbe des normalen Harnes in etwa 5 cm dicker Schicht ist blaßgelb bis rotbraun, bei Gegenwart von Gallenfarbstoff braun bis grün. Emodinhaltige Abführmittel bewirken goldgelbe Färbung, die auf Zusatz von Alkalien rot wird. Blut und Hämoglobin färben den Harn dunkelrot, nach Santoningenuß erscheint der Harn stark gelb bis rot, phenolhaltiger Harn färbt sich beim Stehen an der Luft braun, beim Bestehen eines melanotischen Karzinoms kann sich der Harn sogar schwarz färben.

Der frische normale Harn enthält eine geringe Menge Oberhautzellen aus den Harnwegen und etwas Schleim, zuweilen auch Kriställchen. Diese Bestandteile setzen sich beim Stehen als leichtes Wölkchen zu Boden. Die Reaktion des Harnes wird mit Lackmuspapier festgestellt. Normaler frischer Harn färbt blaues Lackmuspapier rot. Diese Reaktion rührt nicht von freier Säure, sondern von sauren Salzen her. Bei Gichtkuren erhalten die Patienten auf ärztliche Anordnung ihren Harn bisweilen durch Einnehmen von Natriumbikarbonat alkalisch oder doch mindestens amphoter. Im letzteren Falle färbt der Harn rotes Lackmuspapier blau, blaues rot. Dieses Verhalten ist dem Gehalte des Harns an Dinatriumphosphat zuzuschreiben. Nach starker Steigerung der Kochsalzzufuhr, nach den Mahlzeiten, nach Obstgenuß oder unter pathologischen Verhältnissen durch Resorption alkalischer Transsudate oder nach Blutungen kann der Harn alkalische Reaktion annehmen. Alkalischer Harn wird meist trübe entleert, die Trübung besteht aus Phosphaten und Karbonaten der alkalischen Erden. Diese Trübung tritt auch

bei der alkalischen Gärung des Harnes auf, wobei wohl zu unterscheiden ist, ob die Gärung bereits in der Blase begonnen oder erst nach der Entleerung stattgefunden hat.

Prüfung auf Eiweißstoffe. Sie können im Harne gesunder Personen vorkommen, werden jedoch meist als Warnungszeichen, daß irgend etwas nicht in Ordnung ist, angesehen, falls sie nicht geradezu ein Zeichen bestimmter Erkrankungen sind. Bei Krankheiten sind im Harne beobachtet worden: Albumine (Serumalbumin, Serumglobulin), Albumosen, Peptone, Hämoglobin, Fibrin und muzinähnliche Substanz. Letztere läßt sich auch in normalen Harnen mehr oder minder deutlich nachweisen, pathologisch erscheint sie in größerer Menge; wahrscheinlich besteht sie aus Nukleoalbuminen. Auf Eiweiß zu prüfender Harn muß vollständig klar sein. Bakterientrübe Harne lassen sich durch Schütteln mit $^1/_5$ ihres Volumens reinen Kieselgurs und wiederholtes Filtrieren durch dasselbe Filter klar erhalten. Die klare Flüssigkeit dient zu folgenden Proben:

1. Albumine. (Serumalbumin und Serumglobulin, die meist zusammen vorkommen). a) Eine Probe des Harns wird im Reagierglase zum Sieden erhitzt und darauf mit einigen Tropfen Salpetersäure bis zur stark sauren Reaktion versetzt; ein flockiger Niederschlag zeigt Eiweiß an (Kochprobe). Spuren von Eiweiß können bei dieser Probe übersehen werden, weil das abgeschiedene Eiweiß in der heißen Salpetersäure etwas löslich ist. Der Zusatz der Säure ist notwendig, um den sonst meist entstehenden Niederschlag von Phosphaten der Erdalkalien zu lösen. Andererseits kann durch die Gegenwart von Harzsäuren Eiweiß vorgetäuscht werden. Die Niederschläge von Harzsäuren oder Harnsäure sind jedoch nicht flockig.

b) Man schichtet den Harn am besten durch Ausfließenlassen aus einer Pipette vorsichtig über offizinelle Salpetersäure, die sich in einem Reagierglase befindet, so daß sich die Flüssigkeiten nicht mischen. Beim Vorhandensein von Eiweiß bildet sich dicht an der Grenzschicht eine scharf begrenzte Trübung. Diese Form der Fällung als Azidalbumin weist noch 0,025 g Eiweiß in 1000 ccm Harn nach. Eine etwa auftretende Abscheidung von Harnsäure erfolgt nicht an der Grenzschicht, sondern etwas höher; sie erscheint nach oben nicht scharf begrenzt und kann vermieden werden durch vorheriges Verdünnen des Harns mit 2—3 Raumteilen Wasser. Diese Verdünnung empfiehlt sich auch dann, wenn bei sehr gehaltreichen Harnen an der Berührungsschicht der beiden Flüssigkeiten eine kristallinische Abscheidung von Harnstoffnitrat entstehen sollte. Albumosen sowie muzinähnliche Substanz werden bei dieser Probe ebenfalls abgeschieden (Hellersche Probe).

c) Der reichlich mit Essigsäure versetzte Harn läßt auf Zusatz einiger Tropfen Ferrozyankaliumlösung einen dichten weißen Niederschlag entstehen, falls auch nur Spuren von Eiweiß zugegen sind. Entsteht durch Essigsäure allein schon ein Niederschlag, so rührt dieser, falls er in Alkohol löslich ist von Harzsäuren her, sonst von muzinähnlicher Substanz (Nukleoproteïn). Diese scheidet man ab, indem man den Harn mit soviel Bleiazetat versetzt, daß eben ein flockiger Niederschlag entsteht. Das bleifreie Filtrat gibt nun bei Gegenwart von Albumin mit Essigsäure und Ferrozyankalium die Reaktion.

d) Gilt es, Serumalbumin allein und getrennt von den anderen Eiweißstoffen nachzuweisen, so versetzt man eine Probe des Harns mit Alkalihydrat unter Vermeidung eines Überschusses, bis die saure Reaktion eben verschwunden ist, und sättigt die

Flüssigkeit mit Magnesiumsulfat, indem man etwa 10 ccm mit 9 g trockenem gepulvertem Magnesiumsulfat (oder 12 g fein zerriebenem kristallwasserhaltigem Salz) in einer Schale verreibt oder in einem Glase anhaltend schüttelt, wobei die Temperatur nicht über 40⁰ gesteigert werden darf. Sobald die Menge des ungelösten Magnesiumsulfats sich nicht mehr vermindert, die Flüssigkeit sich also damit gesättigt hat, ist vorhandenes Globulin gefällt. Man filtriert, fügt dem Filtrate reichlich Essigsäure zu und kocht. Ein dadurch entstehender flockiger Niederschlag zeigt Serumalbumin an. Bei Gegenwart des Magnesiumsulfates braucht man mit dem Zusatze von Essigsäure nicht so vorsichtig zu sein wie bei Reaktionen mit weniger salzhaltigem Harne. Eine Verwechselung des Serumalbumins mit Albumose ist bei dieser Reaktion nicht ausgeschlossen.

e) Ein beim Sättigen mit Magnesiumsulfat entstehender flockiger Niederschlag besteht aus Serumglobulin. Man wäscht ihn mit gesättigter Magnesiumsulfatlösung bis zum Verschwinden der Eiweißreaktion im Filtrate. Dadurch wird das Serumalbumin entfernt. Den noch salzhaltigen Niederschlag des Serumglobulins löst man in Wasser und verwendet diese Lösung zur Ausführung der a—c beschriebenen Proben.

Anmerkung. Will man die Reaktionen an einem sicher eiweißhaltigen Harne einüben, so löst man das Weiße eines kleinen Hühnereies in dem vierfachen Wasser, filtriert und setzt von der so erhaltenen Eiweißlösung 0,25—2,5 ccm zu 100 ccm normalem Harne.

2. Albumosen werden a) durch Essigsäure und wenig Ferrozyankalium gefällt, doch lösen sich die Niederschläge (jedenfalls nach Zusatz von etwas Chlornatriumlösung zur Probe) in einem Überschusse der Essigsäure, ebenso beim Erwärmen. Die Probe wird am besten mit einem auf das 2—3 fache verdünnten Harne angestellt.

b) Saurer oder mit Essigsäure schwach angesäuerter Harn trübt sich, wenn Albumosen zugegen sind, beim Erwärmen lange vor dem Sieden und kann beim Kochen klar werden; erkaltet die Probe, so entsteht ein beim Wiedererwärmen beständiger Niederschlag.

c) Versetzt man den heißen Harn mit etwas Salpetersäure, so bleibt er klar oder trübt sich nur schwach unter Gelbfärbung; beim Erkalten scheidet sich jedoch ein weißer bis rotgelber Niederschlag ab, der beim Erwärmen sich löst, beim Erkalten sich wieder bildet.

d) Man sättigt den Harn mit Chlornatrium, wobei Albumosen sich durch Entstehung eines Niederschlages verraten, der auf Zusatz von Essigsäure stärker werden kann. Man fügt jetzt einen Überschuß von Essigsäure zu, erhitzt zum Sieden (wobei der Niederschlag sich löst) und filtriert siedend heiß. Beim Erkalten des Filtrates erscheint der Niederschlag wieder, wenn Albumosen zugegen waren.

3. Peptone werden weder durch Ferrozyanwasserstoff bei Gegenwart von Neutralsalz, noch durch Sättigen der Lösung mit Ammonsulfat gefällt. Zum Nachweise des Peptons im Harn müssen alle anderen Eiweißstoffe vollständig entfernt werden. Es geschieht dies, indem man den Harn zuerst mit Natriumazetat, dann mit soviel Eisenchloridlösung versetzt, daß die Mischung blutrot erscheint. Man neutralisiert jetzt mit Alkalihydrat, bis die Mischung neutral oder auf empfindliches Lackmuspapier nur ganz schwach sauer reagiert, erhitzt zum Kochen und filtriert nach dem Erkalten. Das Filtrat darf mit Essigsäure und Ferrozyankalium weder auf Eiweiß noch auf Eisen reagieren.

Ist muzinähnliche Substanz vorhanden (der Harn trübt sich auf Zusatz von Essigsäure), so versetzt

man mit wenig Bleiazetat, so daß ein dichter, flockiger Niederschlag entsteht, das Filtrat aber noch bleifrei ist.

Mit dem so von Eiweiß und Muzin befreiten Harne stellt man die Biuretprobe an, indem man den Harn alkalisch macht und mit sehr verdünnter Kupfervitriollösung (1 : 50) überschichtet. Bei Gegenwart von Pepton entsteht an der Berührungsfläche ein farbiger Ring, der zuerst rosa, dann violett, schließlich mehr blau, aber immer mit einem Stich ins Rote erscheint. Die Entfernung der anderen Eiweißstoffe ist notwendig, weil sie auch die Biuretreaktion geben.

4. Hämoglobin verrät sich im Harne durch seine blutrote Färbung. Es stammt aus Blutergüssen in die Harnwege; über seinen Nachweis siehe bei Blut.

5. Fibrin kommt im Harne ebenfalls dann vor, wenn er bluthaltig ist oder Chylurie besteht. Es kennzeichnet sich als Gerinnsel. Behufs Untersuchung sammelt man das Gerinnsel, knetet es zur Befreiung von anderen Eiweißstoffen mit oft erneuter 5—10-prozentiger Kochsalzlösung, bis die Flüssigkeit keine Eiweißreaktionen mehr gibt. Der Rückstand muß bei längerer Digestion mit einprozentiger Sodalösung oder mit 0,5 prozentiger Salzsäure in Lösung gehen, und diese Lösungen müssen die Eiweißreaktionen geben.

6. Muzinähnliche Substanz ist wahrscheinlich ein Nukleoalbumin. Sie findet sich in den normalen Harnen, zumal von Frauen. Zum Nachweise verdünnt man den filtrierten Harn mit 2—3 Raumteilen Wasser und setzt Essigsäure im Überschusse zu; Trübung zeigt muzinähnliche Substanz an. Auch die Hellersche Eiweißprobe gibt sie. In eiweißhaltigem Harne läßt sich das Nukleoalbumin nach

der Abscheidung von Eiweiß durch Kochen (bei saurer Reaktion) im Filtrate durch Essigsäure erkennen.

Eine annähernde Bestimmung des Eiweißgehaltes im Harne geschieht mit Hilfe des von Esbach angegebenen Albuminimeters. Es ist das ein starkwandiges Reagierrohr mit empirischer Teilung, die es ermöglichen soll, aus der Höhe des erhaltenen Niederschlages auf die Menge des vorhandenen Eiweiß zu schließen. Zur Fällung des Eiweiß benützt Esbach eine wässerige Lösung von 1 g Pikrinsäure (Trinitrophenol) und 2 g Zitronensäure in 100 ccm. Zur Ausführung einer Bestimmung wird das Albuminimeter bis zur Marke U mit dem filtrierten Urin, dann bis R mit dem Reagens beschickt, mit einem gut passenden Kautschukstopfen verschlossen und ohne zu schütteln der Inhalt durch 10—12maliges Umkehren des Gläschens gemischt. Danach läßt man das Röhrchen ruhig 24 Stunden lang bei gleichmäßiger Temperatur stehen und ermittelt dann, bis zu welchem Teilstriche die Flüssigkeit vom Niederschlage erfüllt ist. Die Teilung soll Promille anzeigen. Enthält ein Harn mehr als 4 Promille Eiweiß, muß er vor Anstellung der Probe so verdünnt werden, daß die Ablesung weniger beträgt; die Verdünnung ist in Rechnung zu stellen. Die nach diesem Verfahren erhaltenen Zahlen geben nur dann gut vergleichbare Werte, wenn man bei gleichmäßiger Temperatur gearbeitet hatte. Außerdem können durch die Pikrinsäure auch noch andere Stoffe gefällt werden als Eiweiß, z. B. Alkaloide.

Die genaue Bestimmung der Eiweißmenge im Harne geschieht mit Hilfe der Abscheidung durch Gerinnung. Diese muß so vollständig sein, daß das Filtrat bei der Prüfung nach Heller

kein Eiweiß mehr zu erkennen gibt. Man prüft zunächst mit einigen Vorversuchen, ob und wieviel Tropfen Essigsäure man zu 50 ccm Harn zusetzen muß, um bei langsamem Erhitzen eine gute, grobflockige Gerinnung zu erzielen, deren Filtrat — nach halbstündigem Erhitzen — die Hellersche Reaktion nicht mehr gibt. Nach dieser Ermittelung fällt man das Eiweiß und zwar je nach seiner Menge aus 20 bis 100 ccm klar filtriertem Harne aus. Wer schon etwas geübter ist, wird in den meisten Fällen 100 ccm klaren Harn — bei hohem Eiweißgehalt 50 ccm, die man auf 100 ccm verdünnt — wenn er nicht deutlich sauer ist, mit einem Tropfen verdünnter (30% $C_2H_4O_2$) Essigsäure ansäuern und das Ganze in einem Bade anfangs nur lauwarmen Wassers erhitzen, bis der Harn eine halbe Stunde lang im kochenden Wasser gestanden hat. Hat dabei der Eiweißgehalt sich nicht grobflockig ausgeschieden, so fügt man noch einen bis einige Tropfen Essigsäure zu. Nach erfolgter Abscheidung sammelt man das geronnene Eiweiß auf tariertem aschefreiem Filter, wäscht mit heißem Wasser chlorfrei, läßt vollständig abtropfen, füllt dann den Trichter mit absolutem Alkohol, läßt völlig abtropfen und füllt nochmals voll absoluten Alkohols. Wenn aller Alkohol abgetropft ist, wäscht man in derselben Weise zweimal mit Äther, trocknet dann das Filter nebst Inhalt bei 110—115°, läßt abkühlen und wägt. Vor dem Abwiegen des leeren Filters muß dies ebenfalls bei 110—115° bis zum gleichbleibenden Gewichte getrocknet sein. Schließlich wird das Filter nebst Inhalt verascht und der Aschegehalt von dem Gewichte des Koagulierten in Abzug gebracht.

Zur getrennten Bestimmung des Globulins wird der Harn genau neutralisiert und dann mit Magnesiumsulfat gesättigt (Hammarsten) oder mit dem gleichen Raumteile gesättigter, völlig neu-

traler Ammonsulfatlösung versetzt und bis zum Absetzen des flockigen Niederschlages, jedoch zur Vermeidung einer Mitfällung von Ammonurat nicht über eine Stunde, stehen gelassen (Hofmeister und Pohl). Das in jedem Falle abgeschiedene Globulin wäscht man je nach dem Fällungsmittel mit gesättigter Magnesiumsulfat- oder mit halbgesättigter Ammonsulfatlösung aus, trocknet etwa 3 Stunden lang bei 110°, wobei das gefällte Globulin unlöslich wird, kocht es dann mit Wasser aus, wäscht das Unlösliche mit Alkohol, dann mit Äther, trocknet, wiegt, verascht und zieht den Aschegehalt vom ersterhaltenen Gewichte ab. Man erhält so das Gewicht des Globulins. Wird dies vom Gewichte der Gesamt-Eiweißmenge abgezogen, so erhält man das Gewicht des Albumins.

Nachweis von Gallenfarbstoffen. Sie kommen nach Gallenstauungen im Harne vor; im frischen Harne ist mit Sicherheit nur Bilirubin nachgewiesen, die anderen (Bilifuszin, Biliprasin, Biliverdin) bilden sich leicht beim Stehen des Harnes an der Luft. Ikterischer (gallehaltiger) Harn ist gelb, braun bis grün, er schäumt leicht und sein Schaum ist deutlich gefärbt. Man weist die Gallenfarbstoffe in folgender Weise nach:

a) Einige ccm untersalpetersäurehaltige Salpetersäure (95 g offizinelle Salpetersäure, 5 g rauchende Salpetersäure, 30 g Wasser) werden mit dem zu prüfenden Harne überschichtet. Die Entstehung einer grünen Zone zeigt Gallenfarbstoffe an (Gmelins Probe).

b) Man filtriert den Harn und betupft das ausgebreitete noch feuchte Filter mit einem Tropfen Salpetersäure. War der Harn gallehaltig, so entsteht ein Farbenring, der von innen nach außen gelbrot, violett, blau, grün erscheint.

c) Kleine Mengen Gallenfarbstoff weist man in dunklen Harnen nach, indem man den Harn mit Barythydrat versetzt, so lange er noch einen gefärbten Niederschlag gibt. Bei ikterischem Harn ist dieser Niederschlag gelb. Man filtriert ihn ab und kocht ihn mit Alkohol nach Zusatz einiger Tropfen Schwefelsäure; das Filtrat ist bei ikterischem Harne schön grün.

d) Behandelt man ikterischen Harn, seinen Verdunstungsrückstand oder einen der Gallenfarbstoffe enthaltenden Niederschläge mit Chloroform, so färbt sich dieses durch Aufnahme von Gallenbestandteilen. Wird die gelbe Chloroformlösung mit Salpetersäure versetzt, so tritt die Gmelinsche Reaktion auf.

Nachweis und Bestimmung des Harnstoffs. Der Stickstoffgehalt der Eiweißnahrung wird zum größten Teil als Harnstoff wieder ausgeschieden. Beim Menschen enthalten Blut und alle Säfte Spuren Harnstoff, der Schweiß etwa 0,2 %, der Harn gewöhnlich 2—3 %. Die bei gemischter Kost in 24 Stunden abgesonderte Harnstoffmenge beträgt für erwachsene Männer etwa 30 g, für Frauen etwas weniger. Bei einigen fieberhaften Krankheiten, nach Kochsalzaufnahme und nach reichlichem Wassergenusse findet vermehrte Harnstoffausscheidung statt; bei einigen Leber- und Nierenkrankheiten kann die Ausscheidung des Harnstoffes bedeutend verringert sein.

Der Harnstoff, Karbamid, $CO\begin{cases}NH_2\\NH_2\end{cases}$ wurde 1773 von Rouelle im Harn entdeckt und 1828 von Woehler aus Ammoniumzyanat erhalten, das beim Eindampfen seiner wässerigen Lösung Harnstoff bildet $CONNH_4 \rightarrow CO(NH_2)_2$. Er kristallisiert in langen rhombischen Prismen und besitzt einen etwas bitterlichen kühlenden Geschmack, ähnlich dem des Salpeters. Smp.

132—133°. Harnstoff bildet mit Säuren, Basen und Salzen kristallinische Verbindungen; er vermag sich jedoch nur mit einem Säureäquivalent zu verbinden. Kennzeichnend für Harnstoff sind die Kristalle des Nitrats, die sich aus starker Harnstofflösung auf einen Zusatz von reiner Salpetersäure (frei von Salpetrigsäure!) im Überschuß als weiße glänzende Schuppen ausscheiden. Der Nachweis des Harnstoffs in dieser Form wird meist so ausgeführt, daß man zu einem oder wenigen Tropfen der auf einem Objektträger oder einem Uhrgläschen befindlichen Harnstofflösung einen bezw. einige Tropfen reine offizinelle Salpetersäure fügt und den durch Verdunstenlassen an der Luft etwas eingeengten Rückstand unter Deckglas mit Hilfe des Mikroskops betrachtet. Bei Gegenwart von Harnstoff zeigen sich Geschiebe meist sechseckiger Plättchen, die höchstens mit Salpeter verwechselt werden könnten, der jedoch beim Verbrennen einen entsprechenden Aschenrückstand ergeben würde. Der spitze Winkel dieser Täfelchen beträgt 82°, er kann natürlich nur an wagerecht liegenden Kriställchen gemessen werden. Die Abscheidung ist schwer in verdünnter Salpetersäure, leicht in reinem Wasser löslich.

Verwendet man statt Salpetersäure eine starke Oxalsäurelösung, so scheiden sich mikroskopische rhombische Tafeln aus, die leicht zu kurzen dicken rhombischen Prismen auswachsen.

Von den allgemeinen Eigenschaften des Harnstoffs sind noch die folgenden wichtig:

a) Erhitzt man Harnstoff in einem trocknen Reagierglase, so schmilzt er, es entweicht Ammoniak, gleichzeitig entsteht ein Sublimat von Ammoniumkarbonat, die erhitzte Masse wird schließlich fest durch Bildung von Zyanursäure, dazwischen entsteht jedoch Biuret. $H_2N.CO.NH\boxed{HH_2N}CO.NH_2$. Das Biuret

$H_2N.CO.NH.CO.NH_2$ ist Allophansäureamid. Seine wässerige Lösung wird nach Zusatz von Natronlauge durch Zusatz verdünnter Kuprisulfatlösung violett gefärbt. Diese Reaktion nennt man Biuretreaktion. Sie ist einer ganzen Anzahl dem Biuret nahestehender Stoffe eigen, z. B. den Eiweißstoffen und insbesondere dem Pepton. Bei diesem haben wir sie bereits kennen gelernt. Die Biuretreaktion ist eine Gruppenreaktion, sie kommt allen Gliedern der Gruppe und nicht allein dem eigentlichen Biuret zu. Deshalb dürfen die Stoffe, die sie geben, nicht mit dem Biuret selbst verwechselt werden.

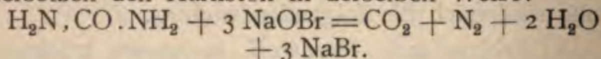
b) Bei der Hydrolyse, also bei Behandlung mit Säuren oder Alkalien, unter dem Einflusse der Gärung usw. nimmt der Harnstoff die Elemente des Wassers auf und bildet Ammoniumkarbonat. Das geschieht bei entleertem Harne leicht freiwillig, der Harn wird dann alkalisch und trübt sich durch Abscheidung von Karbonaten und Phosphaten des Kalziums und Magnesiums.

c) Salpetrige Säure zersetzt den Harnstoff stürmisch in Kohlendioxyd, Stickstoff und Wasser:

$$H_2N.CO.NH_2 + 2\ NO_2H = CO_2 + 2\ N_2 + 3\ H_2O$$

Daher muß man sich hüten, bei Reaktionen auf Harnstoff Reagenzien anzuwenden, die salpetrige Säure (oder Stickoxyde, die solche bilden könnten) enthalten.

d) Hypobromite oder Hypochlorite (Chlorkalk) zersetzen den Harnstoff in derselben Weise:



$$H_2N.CO.NH_2 + 3\ NaOBr = CO_2 + N_2 + 2\ H_2O + 3\ NaBr.$$

Diese Reaktion wird zur *azotometrischen Bestimmung des Harnstoffs* (nach *Knop-Hüfner*) verwendet, indem man das Volumen des entwickelten Stickstoffs mißt, sein Gewicht berechnet und dieses auf Harnstoff umrechnet. Die

Messung des Stickstoffs ist einfach, weil das entstandene Kohlendioxyd durch das in der Bromlauge vorhandene überschüssige Alkali als Karbonat ge-

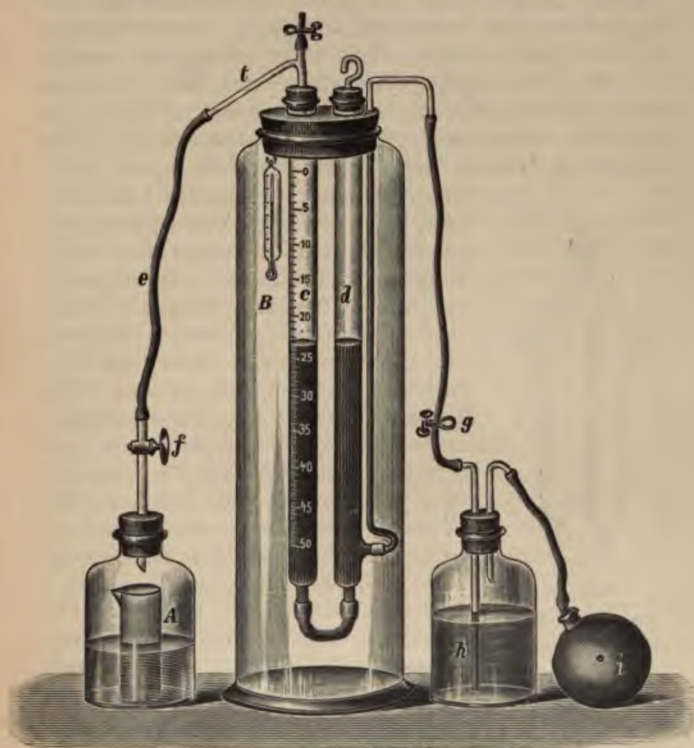


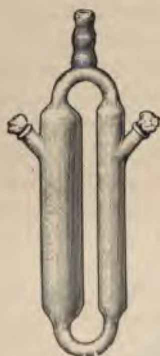
Abb. 1.

Azotometer nach Knop.

bunden wird, so daß sich nur Stickstoff gasförmig entwickelt. Zur Zersetzung dient frisch bereite Bromlauge, die man durch vorsichtiges Mischen von 268 ccm

Natronlauge (100 g Natronhydrat in 250 ccm Wasser gelöst) von 1,31 spezifischem Gewichte (28 % NaOH) mit 25 ccm Brom unter Abkühlen der Mischung erhält. Diese Lauge ist 6—10 Stunden nach ihrer Darstellung am wirksamsten, und an einem dunklen kühlen Orte mehrere Tage lang genügend haltbar.

Als Zersetzungsgefäß dient das Abb. 1 dargestellte Azotometer nach Knop, doch wendet man an Stelle des ursprünglichen Zersetzungsgefäßes A besser ein solches nach Soxhlet (Abb. 2) an. Dies wird mit soviel Quecksilber beschickt, daß das untere enge Verbindungsrohr gefüllt ist. Darauf bringt man in den engeren Zylinder des Zersetzungsgefäßes 5 ccm Harn (mit 1 % Harnstoff; in der Regel eine Mischung aus gleichen Teilen Harn und Wasser), in den weiteren 50 ccm Bromlauge, verbindet das Zersetzungsgefäß durch den Gummischlauch e mit dem Meßzylinder des Azotometers, und stellt es in ein starkes, mit Wasser von Zimmertemperatur gefülltes Batterieglas. Das Azotometer selbst besteht aus dem Meßrohre c und dem ungeteilten Rohre d. Das Meßrohr trägt in seinem Gummistopfen das T-Rohr t, dessen senkrechtes Ende mit Glashahn oder Gummiansatz und Quetschhahn verschlossen ist. Rohr d steht oben durch einen hakenförmigen Ansatz in Verbindung mit der freien Luft und unten durch ein seitliches Ansatzrohr mit dem Gefäße h, von dem aus durch Druck auf den Gummiball i (wobei man dessen Öffnung verschließt) die Azotometerröhren mit Wasser gefüllt, oder nach dem hin die gefüllten Röhren entleert werden können. Quetschhahn g unterbricht den


Abb. 2.
Zersetzungsgefäß nach Soxhlet.

Wasserstrom. Das Wasser ist zur besseren Erkennung seines Standes mit etwas Indigolösung gefärbt Beide Azotometerröhren befinden sich in dem großen Glaszylinder B, der mit Wasser von Zimmertemperatur gefüllt ist. Das eingehängte Thermometer gestattet, die Temperatur abzulesen. Für die Genauigkeit der Versuche ist es wesentlich, daß Anfangs- und Endtemperatur in den beiden Wassergefäßen (B und das Batterieglas) miteinander übereinstimmen, nachdem Temperaturausgleich stattgefunden hat. Man stellt nun bei geöffnetem Hahne des Rohres t die Flüssigkeit in der Meßbürette (und damit auch im Rohre d auf gleiche Höhe) auf den Teilstrich O ein, schließt den Hahn von t und läßt 30—40 ccm Flüssigkeit nach dem Fallgefäß h zurückfließen. Dann nimmt man das Zersetzungsgefäß aus dem Wasser und neigt es so, daß das Quecksilber aus dem bogenförmigen Teile in den engeren Schenkel fließt und danach der Harn von unten in die Bromlauge eintritt. Reste Harn im engeren Schenkel bringt man durch Neigen des Zersetzungsgefäßes nach der anderen Seite mit der Bromlauge in Berührung. Der Harn soll sich nicht auf die Bromlauge ergießen, da sonst ein Verlust an gasförmig sich entwickelndem Ammoniak eintreten könnte. Zum Schluß schüttelt man das Zersetzungsgefäß und stellt es in sein Kühlwasser zurück. Der Temperaturausgleich ist in der Regel nach einer Minute beendet. Nach etwa 15 Minuten wird die Flüssigkeit in den beiden Azotometerröhren auf gleiche Höhe eingestellt und das Volumen des entwickelten Gases sowie die Temperatur des Thermometers im Wassergefäße abgelesen. Das abgelesene Volumen entspricht dem gebildeten Stickstoffe. Ist

g das Gewicht des Stickstoffs in Grammen,
v das Volumen des entwickelten Gases in Kubikzentimetern,

t die Temperatur,
b der auf 0^0 reduzierte Barometerstand,
w die Tension des Wasserdampfes für die Temperatur t

$$\text{so ist } g = \frac{v\,(b - w)}{760\,(1 + 0{,}003665\,t)}\,0{,}0012566$$

7 Gewichtsteile Stickstoff entsprechen 15 Gewichtsteilen Harnstoff.

Wir haben z. B. aus 5 ccm Harn von 1,018 spezifischem Gewichte bei 15^0 C 40,0 ccm Stickstoff bei 20^0 C und 750 mm Barometerstand (bei 15^0 C) gesammelt.

Dann ist

$$v = 40{,}0$$
$$t = 20^0$$
$$b = 750 - 1{,}82 = 748{,}08$$

(Kohlrausch, Lehrb. d. prakt. Physik 9. Aufl. S. 578.)

$$w_{20^0} = 17{,}5 \text{ mm (ebendas. S. 582)}$$

$$\text{folglich } g = \frac{40\,\overbrace{(748{,}08 - 17{,}5)}^{730{,}58}\,.\,0{,}0012566}{760\,\underbrace{(1 + 0{,}003665\,.\,20)}_{1{,}0733}} =$$

0,04502 g N aus 5 ccm Harn

Ausrechnung: log 40	. . .	— 60206	
„ 730,58	. .	— 86367	
„ 12566	. .	— 09920	
		56493	
		91153	
		65340	= n 4502
log 760	. . .	— 88081	
„ 1,0733	. .	— 03072	
		91153	

100 ccm Harn = 0,9004 g N = 1,93 g Harnstoff, denn 7 Teile Stickstoff entsprechen 15 Teilen Harnstoff, also $\frac{0,9004 \cdot 15}{7} = 1,929$.

101,8 g Harn enthalten also 1,93 g Harnstoff,

100 g Harn enthalten daher $\frac{1,93 \cdot 100}{101,8} = 1,90\ \%$ Harnstoff.

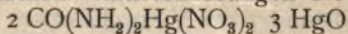
Der Versuch sollte aber mit etwa 1 % Harnstoff haltendem Harne angestellt werden. Wir mischen daher genau gleiche Raumteile unseres Untersuchungsobjektes und Wasser und wiederholen den Versuch unter Anwendung von 5 ccm dieser Mischung.

Das Verfahren leidet an dem Übelstande, daß bei der Behandlung mit Bromlauge nicht allein der Harnstoff, sondern auch die anderen stickstoffhaltigen Bestandteile des Harns ihren Stickstoffgehalt abgeben, und zwar mehr oder minder vollständig. Andererseits gelangt nicht der ganze Stickstoffgehalt des Harnstoffs zur Messung, da ein je nach den Umständen des Versuchs etwas wechselnder Teil nicht zersetzt wird und in der Bromlauge zurückbleibt. Man kann diesen Anteil durch Versuche mit reiner Harnstofflösung (ca. 1 % Gehalt) für den benützten Apparat und die gewählte Bromlauge bestimmen, und danach eine Korrektur am Ergebnis der azotometrischen Bestimmung anbringen. Es hat sich jedoch gezeigt, daß die beiden erwähnten Fehlerquellen in den meisten Fällen sich gegenseitig ausgleichen, so daß der Harnstoffgehalt ohne Korrektur richtig bestimmt zu werden pflegt, wenn von Hippursäure freier Harn verwendet wird. Eiweißhaltiger Harn muß vor der Bestimmung von Eiweiß befreit werden. Ferner hat man festgestellt, daß nach der azotometrischen Stickstoffbestimmung der Gesamt-Stickstoffgehalt des Harns ge-

schätzt werden kann. Zu diesem Zwecke multipliziert man die direkt gefundene Stickstoffmenge bei normalem Harne mit 1,136, bei Fieberharn mit 1,18.

Der azotometrische Apparat und das Bromlauge-Verfahren sind vielfach ab- und umgeändert worden, das Verfahren ist sogar zu einem maßanalytischen umgestaltet. Diese Umänderungen können hier nur erwähnt werden, doch möchte zu bemerken sein, daß das kostspielige Azotometer sich durch zwei gewöhnliche Büretten ersetzen läßt, die unten mit einem **T**-Stück verbunden sind, dessen abwärts gerichteter Schenkel mit Gummischlauch und Quetschhahn verschlossen werden kann. Das Ganze wird ohne Wassermantel in einer aus dem vorigen Versuche leicht abzuleitenden Weise benutzt, kann jedoch nur als Notbehelf gelten.

Eine *maßanalytische Bestimmung* des Harnstoffs ist von *Liebig* angegeben worden. Sie gründet sich darauf, daß Merkurinitrat aus verdünnten, warmen Harnstofflösungen die Verbindung



$$2\,CO(NH_2)_2Hg(NO_3)_2\ 3\,HgO$$

fällt. Die Fällung des Harnstoffs ist vollendet, wenn sich in der Flüssigkeit ein Überschuß von gelöstem Merkurinitrate erkennen läßt, d. h. wenn ein Tropfen der Flüssigkeit mit etwas Natriumkarbonat oder Natriumbikarbonat sogleich eine *gelbe* Abscheidung von Quecksilberoxyd gibt; die Harnstoffquecksilberverbindung zeigt diese Erscheinung — die Endreaktion der Titrierung — nicht. Das Verfahren hat der physiologischen Wissenschaft die größten Dienste geleistet, ist jedoch zurzeit für genaue Bestimmungen nicht mehr üblich, weil die erforderlichen Vorsichtsmaßregeln sehr umständlich sind und das Ergebnis, wie beim azotometrischen Verfahren, nicht allein vom Harnstoffe, sondern auch von den ihn begleitenden stickstoffhaltigen Stoffen

abhängig ist. Mit Rücksicht auf die hohe Bedeutung des Liebigschen Verfahrens für die Entwickelung der Wissenschaft möchte ich die experimentellen Schwierigkeiten die es bietet in Folgendem kurz zusammenfassen. Der zu titrierende Harn muß zuerst von Chloriden und Phosphaten befreit werden, weil die Phosphate mit dem Quecksilbernitrate gleichfalls einen Niederschlag geben, und weil die Chloride aus ihm zunächst Quecksilberchlorid bilden, dessen Ionisation zu gering ist, um die Endreaktion erscheinen zu lassen. Die Chloride müssen daher durch Zusatz einer eben ausreichenden Menge Silbernitrat gefällt werden. Sodann wird die Reaktionsflüssigkeit bei Entstehung des basischen Niederschlages stark sauer und die freiwerdende Säure muß durch Sättigen mit Normal-Sodalösung beseitigt werden. Schließlich muß die Hauptmenge der zur Fällung erforderlichen Quecksilberlösung auf einmal zugesetzt werden, was die vorläufige Ermittelung dieser Menge durch eine Vortitrierung bedingt.

Die Hydrolyse des Harnstoffes zu Ammoniumkarbonat ist von Bunsen zur Grundlage einer Harnstoffbestimmung gemacht, die von Pflüger und vielen anderen bearbeitet und mehr oder minder umgeändert wurde.

Am handlichsten gestaltet sich zurzeit die Bestimmung des Harnstoffes nach Mörner und Sjöqvist. Sie gründet sich auf die Ausfällung aller stickstoffhaltigen Bestandteile des Harns mit alleiniger Ausnahme des Harnstoffs als Baryumverbindungen durch Ätheralkohol, und die Bestimmung des Stickstoffes im Filtrate nach Kjeldahl. Zur Ausführung werden in einem Kölbchen 5 ccm des nötigenfalls von Eiweiß befreiten, jedenfalls eiweißfreien Harns mit 5 ccm einer gesättigten Baryumchloridlösung, in der 5 % Barythydrat aufgelöst waren, versetzt und hierzu 100 ccm einer

Mischung aus 1 Raumteile Äther mit 2 Raumteilen Alkohol von 97 Gewichtsprozenten gefügt. Nach 24 stündigem Stehen wird der Niederschlag abfiltriert, wobei das Filtrat direkt in einem Kjeldahl-Kolben aufgefangen werden kann. Der Niederschlag wird mit Ätheralkohol von der zur Fällung verwendeten Zusammensetzung ausgewaschen, wozu bei Verwendung einer Wasserluftpumpe 50 ccm genügen. Dem Filtrate setzt man eine starke Messerspitze voll gebrannte Magnesia zu und destilliert bei einer auch nach Verflüchtigung des Äthers 60° nicht übersteigenden Temperatur — am besten unter Anwendung eines Vakuums — auf etwa 10 ccm Rückstand ab. Dem Rückstande setzt man nun vorsichtig 20 ccm reine Schwefelsäure zu, erhitzt wie beim Verfahren nach Kjeldahl mehrere Stunden lang bis die Flüssigkeit farblos oder nur schwach gelblich geworden ist und verfährt dann weiter wie bei einer Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl. (S. die folgende Bestimmung des Gesamtstickstoffs im Harne.)

Die Bestimmung des Gesamtstickstoffs beruht auf der Überführung aller stickstoffhaltigen Bestandteile des Harns in Ammoniak und der azidimetrischen Bestimmung des letzteren, das man aus alkalischer Lösung durch Abdestillieren gewinnt.

Zur Ausführung einer Bestimmung werden bei Harn unter 1,020 spezifischem Gewichte 10 ccm, bei Harn über 1,020 spezifischem Gewichte 5 ccm genau abgemessen und in einem 200—300 ccm fassenden langhalsigen Rundkolben aus widerstandsfähigem Glase — einem sogenannten Kjeldahl-Kolben — mit 10 ccm bezw. 5 ccm reiner Schwefelsäure unter gutem Umschwenken vorsichtig versetzt, etwa 0,5 g kristallisiertes Kupfersulfat zugetan und die Mischung im schiefliegenden Kolben mit der Flamme eines einfachen Bunsenbrenners im schwachen Sieden er-

halten, bis die anfangs braune Mischung hell grünlich und klar geworden ist, was 10 Minuten bis eine Stunde in Anspruch zu nehmen pflegt.

Durch das Erhitzen mit Schwefelsäure werden alle stickstoffhaltigen Bestandteile des Harns in Ammoniakverbindungen übergeführt. Das Kupfersulfat wirkt als Kontaktstoff beschleunigend, besonders auf die Oxydation der organischen Stoffe. Ein Zusatz von rauchender Schwefelsäure, oder von Phosphorpentoxyd, oder Kaliumpermanganat, wie er sonst wohl vorgeschrieben wird, ist bei Harn nicht erforderlich. Durch das Erhitzen mit Schwefelsäure werden alle organischen Verbindungen oxydiert, die Stickstoffverbindungen aber zu Ammoniak reduziert; es finden also Oxydations- wie Reduktionsvorgänge statt. Die Schwefelsäure entzieht den organischen Stoffen die Elemente des Wassers unter Verkohlung, die abgeschiedenen kohligen Bestandteile reduzieren die Schwefelsäure unter Bildung von Schwefeldioxyd, und dieses wirkt reduzierend auf die stickstoffhaltigen Stoffe. Bei schwer zerstörbaren stickstoffhaltigen Verbindungen, wie Eiweiß, benutzt man als Kontaktstoff Quecksilbersalz, und dann muß man die Oxydation noch durch Zusatz von etwas Kaliumpermanganat vervollständigen; wenigstens kürzt ein solcher Zusatz die Arbeit bedeutend ab. Bei Harn ist das, wie gesagt, nicht erforderlich und kann daher unterbleiben.

Ist die Zerstörung der organischen Bestandteile vollendet, so läßt man die Schwefelsäurelösung vollständig erkalten, fügt vorsichtig unter Umschwenken 50—100 ccm Wasser hinzu, wobei die Mischung sich erhitzt, gießt die schwefelsaure Lösung in den etwa 0,7 l fassenden Destillierkolben, spült den Kjeldahl-Kolben dreimal gut mit Wasser nach, wozu man im ganzen gegen 150 ccm Wasser braucht, und setzt die ganze Destilliervorrichtung zur Gewin-

nung des gebildeten Ammoniaks zusammen. Zu diesem Behufe setzt man auf den Destillierkolben mit gut schließendem Kautschukstopfen den Destillieraufsatz (Abb. 3), der verhindern soll, daß verspritzende Teilchen des alkalischen Kolbeninhaltes bei der Destillation nach der Vorlage mitgerissen werden, verbindet das freie Ende des Aufsatzes mit



Abb. 3.
Destillieraufsatz.



Abb. 4.
Destilliervorrichtung.

einem Kühler und fügt diesem ein Kölbchen mit Halb-Normalsäure so an, daß das Kühlerende unmittelbar über dem Flüssigkeitsspiegel der Titerflüssigkeit steht. Besser benützt man zur Destillation die in Abb. 4 dargestellten Destilliervorrichtung, bei der ohne Kühlung destilliert wird, und das Ende des Destillationsrohres etwas in die Titerflüssigkeit eintaucht. Ein etwaiges Zurücksteigen der vorgelegten Flüssigkeit wird durch die kugelförmige Erweiterung des Destillationsrohres unschädlich gemacht. Durch Niedrigerstellen der Träger für die Vorlagen muß man Sorge tragen, daß die Spitze des

Destillationsrohres immer nur eben in die Flüssigkeit eintaucht. Die Vorlage beschickt man mit 20 ccm Halb-Normalsäure. Wenn alles so vorgerichtet ist, lüftet man den Kautschukstopfen des Destillierkolbens, fügt zu dessen Inhalt 40 ccm Natronlauge von 1,34 spezifischem Gewichte, verschließt sofort wieder und destilliert nun mindestens die Hälfte bis zwei Drittel des Kolbeninhaltes ab. Die destillierenden Dämpfe führen das durch die Lauge in Freiheit gesetzte Ammoniak vollständig in die Vorlage über. Gegen Ende der Destillation senkt man die Vorlage, so daß die Spitze des Destillationsrohres aus der Flüssigkeit gehoben wird und spritzt die dem Rohre außen etwa anhängende Titerflüssigkeit mit etwas Wasser in die Vorlage. Innen wird das Rohr durch die sich verdichtenden Dämpfe nachgespült. Durch die im Überschusse angewendete Halb-Normalsäure wird das destillierte Ammoniak in der Vorlage zu Ammoniumsalz umgewandelt. Den Überschuß der Säure titriert man mit Halb-Normalnatron unter Verwendung von Rosolsäure als Indikator zurück. Die Differenz der vorgelegten und der als Überschuß zurücktitrierten Halb-Normalsäure ist gleich der zur Bindung des Ammoniaks benötigt gewesenen Säuremenge; man kann daher aus dieser die Menge des Ammoniaks oder des Stickstoffs berechnen. Jeder Kubikzentimeter Halb-Normalsäure entspricht 0,0085 g $NH_3 = 0{,}007$ g N.

Beispiel: Verwendet seien 10 ccm Harn von 1,015 spezifischem Gewichte; bei der Destillation des Ammoniaks in der Vorlage vorgeschlagen 20 ccm n/2 Oxalsäure[1]). Zur Sättigung des Säure-Überschusses seien erforderlich 4 ccm n/2

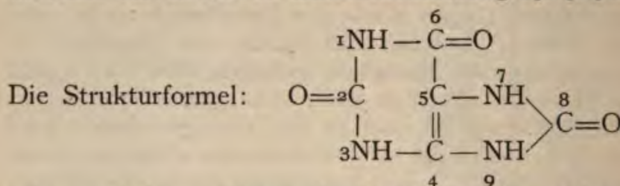
---

[1]) $C_2O_4H_2 + 2H_2O = 126$, da die Säure zweibasisch, ist das Äquivalent halb so groß; n/1 Säure enthält also 63 g, n/2 31,5 g kristallisierte Oxalsäure im Liter.

Natronlauge. Es sind dann 20 — 4 = 16 ccm n/2 Säure durch das gebildete Ammoniak gesättigt, mithin enthielten 10 ccm Harn 16 . 0,007 = 0,112 g N. 100 ccm = 101,5 g des Harnes enthielten also 1,12 g oder der Harn enthielt $\frac{1,12 \cdot 100}{101,5} = 1,10(4)\,\%$ N.

Nachweis und Bestimmuug der Harnsäure. Die Harnsäure ist ein weißes, mikrokristallinisches Pulver von der Zusammensetzung $C_5H_4N_4O_3$.

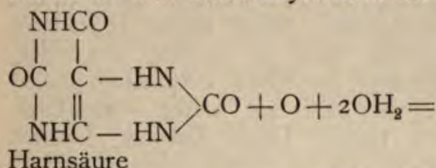
Die Strukturformel:



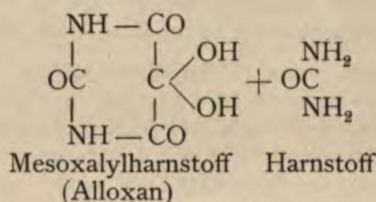
zeigt zwei Harnstoffreste ringförmig mit einem Kerne von drei Kohlenstoffatomen vereinigt. Die Harnsäure wurde 1776 von Scheele aus Harnsteinen dargestellt; sie findet sich im Muskelsafte, Blute und Harne, namentlich der Fleischfresser. Sehr reich an Harnsäure sind die Verdauungsprodukte der Vögel (Guano), Schlangen und Insekten. Wahrscheinlich entsteht sie aus genossenen Nukleïnen und Purinbasen in Leber, Milz, Muskeln. Dargestellt wird die Harnsäure am besten aus Schlangenexkrementen. Der gesunde erwachsene Mensch scheidet täglich 0,2—1,25 g, im Mittel etwa 0,7 g Harnsäure aus; die Menge der abgeschiedenen Harnsäure wird zu 1,5—2 % des in der gleichen Zeit abgeschiedenen Harnstoffs angenommen, doch schwanken diese Zahlen sehr.

Harnsäure ist in Alkohol und in Äther unlöslich. Die Lösungen in Wasser bleiben lange übersättigt; ein Teil der Säure ist in 88000 Teilen Wasser von 18° C oder in 1800 Teilen Wasser von 100° C löslich. Natriumphosphat, Borax und eine große Reihe

anderer Salze, besonders die alkalisch reagierenden, erhöhen die Löslichkeit in Wasser bedeutend. Je nachdem ein oder zwei Wasserstoffatome durch Metalle ersetzt sind, bildet die Harnsäure saure oder neutrale Salze. In Ätzalkalien löst sich die Harnsäure unter Bildung neutraler Salze; leitet man Kohlendioxyd in diese Lösung, so scheiden sich die schwerer löslichen sauren Salze aus. Behandelt man Harnsäure in der Kälte mit Salpetersäure, so entsteht Harnstoff und Mesoxalyl-Harnstoff (Alloxan).

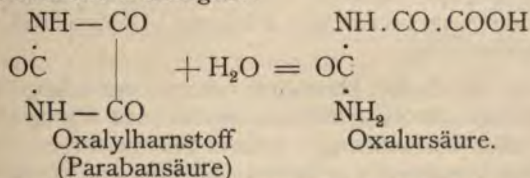


Harnsäure



Mesoxalylharnstoff (Alloxan) Harnstoff

Beim Erwärmen mit Salpetersäure liefert der Mesoxalylharnstoff Kohlensäure und Oxalylharnstoff (Parabansäure), der durch Aufnahme von Wasser in Oxalursäure übergeht:

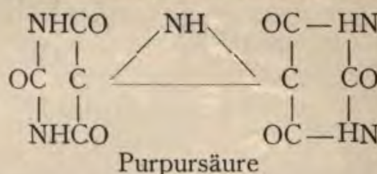


Oxalylharnstoff (Parabansäure) Oxalursäure.

Die Oxalursäure spaltet sich durch Aufnahme von Wasser leicht in Harnstoff und Oxalsäure. Diese Reaktionen geben gleichzeitig einen Beweis für die Richtig-

keit der Konstitutionsformel. Die aus ihren Lösungen abgeschiedene reine Harnsäure bildet mikroskopisch kleine, durchsichtige, rhombische Täfelchen. Bei unreiner Harnsäure, wie sie sich aus dem Harne abscheidet, sind die stumpfen Winkel der rhombischen Täfelchen abgerundet, so daß wetzsteinartige Formen entstehen, die undurchsichtig und rotgelb sein können, und vielfach zu Aggregaten vereinigt sind. Harnsäure reduziert beim Kochen alkalische Kupferlösung.

Zur Erkennung der Harnsäure dient a) die sogenannte Murexidprobe. Wird etwas Harnsäure in Salpetersäure gelöst und die Lösung vorsichtig zur Trockne verdunstet, so erhält man einen schön roten Rückstand, der sich mit wenig Ammoniak prächtig purpurrot färbt. Diese Färbung kommt dem Ammoniumsalze der in freiem Zustande nicht bekannten Purpursäure, dem Murexid, zu.



Purpursäure

Fügt man dem erkalteten roten Verdunstungsrückstande statt des Ammoniaks verdünnte Natronlauge zu, so entsteht eine blauviolette, beim Erwärmen verschwindende Färbung (Unterschied von Xanthinstoffen).

b) Wird die Harnsäure durch vorsichtige Behandlung mit Salpetersäure in Alloxan übergeführt, und die überschüssige Säure bei niedriger Temperatur verdunsten gelassen, so gibt der Rückstand mit einigen Tropfen reiner Schwefelsäure und gewöhnlichem thiophenhaltigem Benzol eine blaue Färbung (Denigès).

Die Bestimmung der Harnsäure darf nur in eiweißfreiem Harne erfolgen. Aus eiweißhaltigem wird zunächst (bei nicht genügend saurer Reaktion unter vorsichtigem Zusatze von Essigsäure) durch Kochen das Eiweiß abgeschieden. Die Bestimmung wurde ursprünglich so ausgeführt, daß man 200 ccm Harn mit 5 ccm Salzsäure von 1,11 spezifischem Gewichte versetzte und die Mischung an einem möglichst kühlen Orte 24—36 Stunden lang stehen ließ. Nach Verlauf dieser Zeit sammelte man die mehr oder minder stark gefärbten Kristalle der ausgeschiedenen Harnsäure auf einem tarierten Filter von 52 bis 60 mm Durchmesser, wusch mit 30 ccm Wasser vollständig aus und trocknete bei 100° C. Dabei blieb zwar eine nicht unbeträchtliche Menge Harnsäure in der filtrierten Flüssigkeit, doch fiel auch die abgeschiedene Harnsäure sehr unrein aus, und man nahm an, daß die Fehler sich gegenseitig ausglichen. Für jeden Kubikzentimeter Wasser, der etwa über die angegebene Menge von 30 ccm erforderlich war, um die Harnsäure frei von Chloriden zu erhalten, zählte man 0,045 mg Harnsäure der gewogenen Menge zu. Das ist das Verfahren von Heintz; es wurde noch neuerdings von E. Pfeiffer angewendet, um die Neigung eines Harnes, Harnsäure abzuscheiden, die für gichtische Erkrankungen kennzeichnend sein soll, festzustellen. Zu diesem Behufe wird einmal in 200 ccm Harn die Harnsäure nach Heintz bestimmt. Dann aber werden 100 ccm desselben Harnes durch ein Filter mit 0,5 g reiner Harnsäure und weitere 100 ccm durch ein solches mit 0,2 g reiner Harnsäure filtriert, und im Filtrate die Harnsäure nach Heintz bestimmt. Findet sich hierbei keine Harnsäure oder nur Spuren derselben, so wird auf Gicht geschlossen.

Am genauesten bestimmt man die Harnsäure in Harnen, die frei von Eiweiß und Zucker

sind, nach dem Verfahren von Salkowski-Ludwig durch Fällen aus einer magnesiahaltigen ammoniakalischen Lösung als Silberverbindung, Zerlegung letzterer mit Alkalisulfhydrat, Abscheidung der Harnsäure aus der Lösung durch Salzsäure, und Wägung der durch Waschen mit Schwefelkohlenstoff von mitgefälltem Schwefel befreiten Harnsäure.

Zur Ausführung einer Bestimmung werden 200 ccm Harn[1]) in einem Becherglase mit 50 ccm Silber-Magnesiumlösung[2]) versetzt. Den entstehenden Niederschlag läßt man etwas absetzen, bringt ihn auf ein Saugfilter von etwa 10 cm Durchmesser, und wäscht 2—3 mal mit Wasser nach, dem einige Tropfen Ammoniakflüssigkeit zugesetzt sind. Die Waschflüssigkeit benützt man zugleich zum Ausspülen des Becherglases, wobei jedoch die letzten Reste des Niederschlages nicht vollständig auf das Filter gebracht zu werden brauchen. Man saugt das Filter gut ab, und sobald der Niederschlag so trocken geworden ist, daß sich in ihm Risse gebildet haben, streift man ihn mit einem Glasstabe vom Filter, ohne dieses zu verletzen und bringt ihn in das Becherglas zurück. Die auf dem Filter zurückbleibenden Reste des Niederschlages werden möglichst vollständig in das Becherglas gespritzt. Alsdann werden 10 ccm Alkalisulfhydrat-Lösung[3])

[1]) Enthält der Harn eine Abscheidung von Uraten, so sucht man diese durch Erwärmen zu lösen oder man löst den Niederschlag in wenig Natronlauge und setzt diese Lösung zur Hauptmenge des Harns.

[2]) 150 g Chlorammon, 100 g Chlormagnesium werden in 20 prozentiger Ammoniakflüssigkeit zu 1 l gelöst und filtriert. Diese Lösung wird mit dem gleichen Raumteile n/10 Silberlösung gemischt und die Mischung verwendet.

[3]) 15 g reines Kaliumhydroxyd oder 10 g reines Natriumhydroxyd werden zu 1 l gelöst; von dieser Lösung werden 500 ccm vollständig mit Schwefelwasserstoff gesättigt und dann mit den anderen 500 ccm der Lösung vereinigt. Das Alkali muß insbesondere völlig frei von Nitraten und Nitriten sein. An der Luft zersetzt sich die Alkalisulfhydratlösung allmählich.

mit 10 ccm Wasser zum Sieden erhitzt, und mit dieser Flüssigkeit wird das Filter ausgewaschen, wobei man das Filtrat in das Becherglas mit dem Niederschlage ablaufen läßt. Letzteren zerteilt man mit dem Glasstabe möglichst fein, erhitzt durch Einstellen in kochendes Wasser, und sobald der ganze Niederschlag gleichmäßig schwarz geworden ist und keine unveränderten grauen oder gelblichen Teilchen enthält, filtriert man ihn durch das bereits benützte Filter in eine Schale, und wäscht ihn mit kleinen Mengen heißen Wassers, die man jedesmal völlig ablaufen läßt, bis zum Verschwinden der alkalischen Reaktion aus. Längeres Erhitzen der Sulfhydratlösung ist zu vermeiden, weil dabei Harnsäure zersetzt wird.

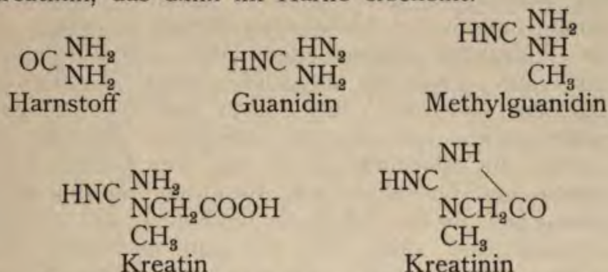
Das Filtrat wird mit 1,25 ccm Salzsäure von 1,12 spezifischem Gewichte angesäuert, und auf etwa 10 ccm eingedampft. Nach dem Erkalten kristallisiert die Harnsäure aus. Sie wird nach mehrstündigem Verweilen der Flüssigkeit an einem kalten Orte auf einem bei 110° getrockneten tarierten Asbestfilterchen gesammelt, wobei man das Filtrat zum Nachspülen der Kriställchen auf das Filter verwendet, bis alle Kristalle sich auf dem Filter befinden. Die Mutterlauge wird nun unter schwachem Drucke abgesogen, und der Niederschlag mit kleinen Mengen kalten Wassers chlorfrei gewaschen. Sobald dies geschehen, wird das Filter getrocknet, zur Entfernung mitgefällten Schwefels dreimal mit Schwefelkohlenstoff ausgewaschen, der Schwefelkohlenstoff zuletzt durch Äther verdrängt, das Filter dann eine Stunde lang bei 110° getrocknet, im Exsikkator erkalten gelassen und gewogen. Durch erneutes halbstündiges Trocknen bei 110° und nochmaliges Wiegen überzeugt man sich von der Gewichtskonstanz. Wichtig ist, daß diese Bestimmung in einem Zuge ohne Unterbrechung ausgeführt wird,

da alkalische Harnsäuremischungen zur Zersetzung neigen.

Die Bestimmung des Ammoniaks im Harne kann nur mit Hilfe eines Verfahrens erfolgen, das zwar aus Ammoniumsalzen das Ammoniak gewinnen läßt, es aber aus den anderen Bestandteilen des Harns nicht abspaltet. Ein solches Verfahren ist von Schlösing angegeben. Es beruht darauf, daß Kalkmilch (oder eine Anreibung von gebrannter Magnesia) aus Ammonsalzen schon bei Zimmerwärme Ammoniak frei macht, aus den anderen Stickstoffverbindungen aber kein Ammoniak bildet, und daß das freiwerdende Ammoniak durch n/10 Säure vollständig gebunden wird. Zur Ausführung dieses Verfahrens dient eine flache Kristallisationsschale aus Glas mit niedrigen Rändern von 10—12 cm Durchmesser. Sie trägt ein Dreieck aus Glasstäben, auf das ein Porzellanschälchen von etwa 50 ccm Fassungsvermögen gesetzt wird. Das Ganze wird unter eine mit Tubulus und gasdicht schließendem Glasstopfen versehene möglichst kleine Glasglocke gestellt, die auf eine Glasplatte luftdicht aufgeschliffen ist. In die Kristallisationsschale bringt man 20 ccm filtrierten Harn, in das Porzellanschälchen 10 ccm n/10 Säure, setzt die Glocke dicht auf, fügt nun durch den Tubulus 10 ccm Kalkmilch (1 Teil Kalziumhydroxyd, 12 Teile Wasser) zum Harne, schließt sofort den Tubulus und läßt 48 Stunden lang stehen. Nach dieser Zeit führt man durch den Tubulus ein Stückchen feuchtes rotes Lackmuspapier in die Glocke ein. Bleibt dies nach Verlauf einer Stunde noch rot, so ist alles Ammoniak von der Säure im Schälchen absorbiert, und man titriert den Rest der Säure zurück. 1 ccm n/10 Säure ist gleich 0,0017 g NH_3.

Kreatinin nimmt unter den bisher noch nicht behandelten stickstoffhaltigen physiologischen Be-

standteilen des Harns den hervorragendsten Platz ein. Das in den Muskeln vorkommende Kreatin ist chemisch Methyl-Guanidin-Essigsäure; aus ihm bildet sich, wahrscheinlich in den Nieren, sein Anhydrid, Kreatinin, das dann im Harne erscheint.



Die Menge des von einem Erwachsenen innerhalb 24 Stunden ausgeschiedenen Kreatinins beträgt durchschnittlich etwa 1 g; bei gesteigertem Stoffwechsel soll mehr, bei herabgesetztem (Anämie, Kachexie) weniger Kreatinin ausgeschieden werden. Das Kreatinin bildet in kristallisierter Form farblose, glänzende, monokline Prismen, die bei 100° kein Wasser verlieren. Es löst sich in etwa 11 Teilen kaltem Wasser, in warmem ist es leichter löslich. In kaltem Alkohol löst es sich schwer, in warmem leichter, in Äther fast gar nicht. In alkalischer Lösung wandelt es sich beim Erwärmen leicht in Kreatin um. Das ist bei der quantitativen Bestimmung des Kreatinins besonders zu berücksichtigen. Das Kreatinin reduziert Quecksilberoxyd zu Quecksilber, und es entstehen dabei Methylguanidin und Oxalsäure. Alkalische Kupferlösung wird durch Kreatinin reduziert, es bildet sich eine farblose Lösung, aber erst bei anhaltendem Kochen mit überschüssigem Kupfersalz scheidet sich rotes Kupferoxydul ab. Dies Verhalten ist wichtig und muß bei Anstellung der Zuckerproben im Harne

besonders im Auge behalten werden. Alkalische Wismutlösung wird von Kreatinin nicht reduziert.

Zur Bestimmung des Kreatinins nach Neubauer-Salkowski werden 240 ccm Harn mit Kalkmilch ganz schwach alkalisch gemacht, dann tropfenweise Chlorkalziumlösung zugefügt, bis die Phosphate abgeschieden sind. Die Flüssigkeit wird auf 300 ccm aufgefüllt, nach 15 Minuten 250 ccm abfiltriert, das Filtrat auf etwa 20 ccm eingedampft, mit 20 ccm absolutem Alkohol gemischt, die Mischung in ein 100 ccm Kölbchen gebracht und die Schale mit absolutem Alkohol nachgewaschen, bis der Inhalt des Kölbchens auf 100 ccm gebracht ist. Man läßt bis zum nächsten Tage stehen, filtriert durch ein trockenes Filter 80 ccm ab und versetzt das Filtrat mit etwa 20 Tropfen alkoholischer Chlorzinklösung (1 Chlorzink 2 Alkohol). Nach 1—2 Tagen hat sich das Kreatinin-Zinkchlorid $(C_4H_7N_3O)_2ZnCl_2$ in mikroskopischen, zu kugeligen Drusen vereinigten Nadeln abgeschieden; es wird auf tariertem Filter gesammelt, bis zum Verschwinden der Chloridreaktion mit Alkohol gewaschen, bei 100° getrocknet, gewogen, vom Teile aufs ganze gerechnet (die gefundene Menge wird mit $\frac{6}{5} \cdot \frac{5}{4} = \frac{3}{2}$ multipliziert entsprechend $\frac{300}{250}$ und $\frac{100}{80}$) und dann im Verhältnis $\frac{226,34}{362,64}$[1] $= 0,6242$ umgerechnet. Die so erhaltene Zahl muß, entsprechend den ursprünglich verwendeten 240 ccm noch mit 2,4 dividiert werden, um die in

---

1)

C_4	48	Zn	65,4
H_7	7,05	Cl_2	70,9
N_3	42,12		136,3
O	16		226,34
226,34 = 2 . 113,17			362,64

100 ccm Harn enthaltene Menge Kreatinin zu erhalten. Zieht man die drei Umrechnungs-Faktoren zusammen, so erhält man $\frac{3}{2} \cdot \frac{0{,}6242}{2{,}4} = 0{,}3901$.

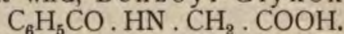
Zur Identifizierung wird a) eine kleine Menge des Kreatininchlorzinks mit Wasser gekocht, die Lösung nach dem Erkalten filtriert, das Filtrat zuerst mit etwas Nitroprussidnatriumlösung und dann mit 2 Tropfen Natronlauge versetzt. Es entsteht eine tiefrote, schnell zu strohgelb abblassende Färbung (Weyl). Die Reaktion kann man auch mit dem Harne unmittelbar ausführen. Enthält der Harn Azeton, so muß man dieses vor Anstellung der Probe fortkochen, da es eine ähnliche Reaktion gibt.

b) Versetzt man kreatininhaltigen Harn mit etwas Pikrinsäurelösung, dann mit einigen Tropfen Natronlauge, so entsteht eine tiefrote Färbung (Jaffé).

Auf diese Reaktion hat Folin ein kolorimetrisches Verfahren gegründet, das einfacher und vielleicht auch zuverlässiger ist, als die Bestimmung nach Neubauer-Salkowski. Zu seiner Ausführung werden 10 ccm Harn in einem 500 ccm fassenden Meßkolben mit 15 ccm 1,2%iger Pikrinsäurelösung und 5 ccm 10%iger Natronlauge versetzt. Man schüttelt um und füllt nach 5 Minuten zur Marke auf. Die so erhaltene Lösung wird in einem Duboscqschen Kolorimeter mit einer n/2 Lösung von Kaliumdichromat verglichen. Letztere hat in 8 mm dicker Schicht dieselbe Färbung, wie eine 8,1 mm dicke Schicht einer Lösung von 10 mg Kreatinin, die nach Zusatz von 15 ccm 1,2%iger Pikrinsäurelösung und 5 ccm Natronlauge zu 500 ccm verdünnt worden ist. Man stellt also die Höhe der Schicht fest, welche die Harnlösung haben muß, um einer 8 mm dicken Schicht n/2 Dichromatlösung

gleichgefärbt zu sein. Hätte man dabei z. B. 6,3 mm gefunden, so wäre der Kreatiningehalt in 10 ccm Harn $\frac{8,1}{6,3} \cdot 10 = \frac{90}{7} = 12,86$ mg. Beide Bestimmungen erfordern von Zucker und Eiweiß freien Harn.

Hippursäure kommt regelmäßig und in größerer Menge im Harne der Pflanzenfresser vor; in dem der Fleischfresser tritt sie zurück. Ihre Menge ist im Menschenharne bei gemischter Kost gewöhnlich geringer als 1 g in 24 Stunden, im Mittel etwa 0,7 g. Nach reichlichem Genusse von Gemüse, Obst und dergl. kann diese Menge über 2 g steigen. Sie soll auch im Blute und Schweiße gefunden sein. Chemisch ist Hippursäure *Benzoyl-Amino-Essigsäure*, oder, da die Amino-Essigsäure auch Glykokoll genannt wird, *Benzoyl-Glykokoll*:



$$C_6H_5CO . HN . CH_2 . COOH.$$

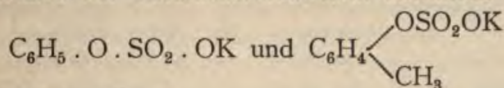
Nach Einführung von Benzoësäure in den Organismus entsteht Hippursäure; bei Hunden, wie es scheint, in den Nieren.

Reine Hippursäure bildet lange, rhombische Prismen oder Säulen (Nadeln). Sie löst sich in 500 T. kaltem Wasser, leichter in heißem, leicht in Alkohol, schwerer in Äther. Von Essigäther wird sie leicht gelöst, in Petroläther ist sie unlöslich. (Unterschied von Benzoë-Säure). Der Schmelzpunkt liegt bei 187,5° C; höher erhitzt gibt die Hippursäure ein Sublimat von Benzoësäure, das abgetrennt und für sich untersucht werden kann.

Zur Bestimmung der Hippursäure machen *Bunge* und *Schmiedeberg* 500 ccm Harn mit Natriumkarbonat schwach alkalisch, verdunsten bis fast zur Trockne und ziehen den Rückstand gründlich mit absolutem Alkohol aus. Man läßt die filtrierte alkoholische Lösung verdunsten, löst den Rückstand in Wasser, säuert mit verdünnter Schwefelsäure stark an, und schüttelt im Scheidetrichter mit

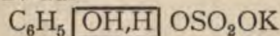
immer frischen Mengen Essigester (mindestens fünfmal), bis dieser nichts mehr löst. Die vereinigten Essigester-Ausschüttelungen wäscht man im Scheidetrichter zweimal mit wenig Wasser, verdunstet die Essigesterlösung, und behandelt den dabei erhaltenen Trockenrückstand mit Petroläther. Dadurch werden Benzoësäure, Oxysäuren, Fett, Phenole gelöst und entfernt. Die zurückbleibende Hippursäure löst man in wenig warmem Wasser, verdunstet zur Kristallisation, sammelt die Kristalle auf tariertem Filter, entzieht der Mutterlauge ihren Gehalt an Hippursäure durch Ausschütteln mit Essigester, verdunstet die Essigesterlösung, und wiegt den getrockneten Verdunstungsrückstand mit den Kristallen zusammen.

Phenol- und **Parakresol-Schwefelsäure** sowie etwas **Orthokresolschwefelsäure** finden sich besonders nach überwiegender Pflanzennahrung im Menschenharn. Nach Munk beträgt die Gesamtmenge der in 24 Stunden ausgeschiedenen Phenole, die aus den Esterschwefelsäuren des Harnes sich erhalten lassen, 0,017 bis 0,051 g. Die Phenole sind bei ausreichendem Sulfatgehalte im Harne als Alkalisalze der Esterschwefelsäuren enthalten



$$C_6H_5 . O . SO_2 . OK \text{ und } C_6H_4 \begin{cases} OSO_2OK \\ CH_3 \end{cases}$$

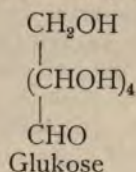
entstanden z. B. aus



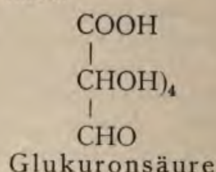
$$C_6H_5 \boxed{OH,H} OSO_2OK$$

d. h. Phenol als tertiärer Alkohol bildet mit dem sauren Sulfat einen Ester. Es liegt also in dieser Verbindung eine Schwefelsäure vor, bei der eines der ersetzbaren Wasserstoffatome durch Kalium, das andere durch Phenyl ersetzt ist. Beim Kochen mit verdünnten Mineralsäuren zerfallen die Esterschwefelsäuren in Schwefelsäure und die betreffenden Alkohole.

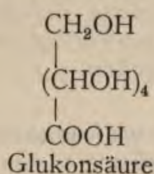
Neben den Esterschwefelsäuren können die Phenole als gepaarte Glukuronsäuren vorhanden sein. Die Glukuronsäure steht, wie die Formeln zeigen, dem Traubenzucker, der Glukose nahe.



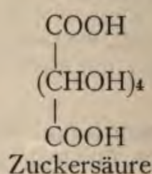
Glukose



Glukuronsäure



Glukonsäure



Zuckersäure

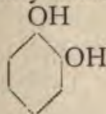
Bei Bildung der gepaarten Glukuronsäuren, wie sie im Organismus nach Einführung von Kampher, Borneol, Chloral, Phenolen und anderen Stoffen entstehen, vereinigen sich diese Stoffe mit der Aldehydgruppe des im Organismus vorhandenen, bezw. gebildeten Traubenzuckers, während dessen primäre Alkoholgruppe oxydiert wird. Nicht zu verwechseln mit der Glukuronsäure, die eine Aldehyd- und eine Säuregruppe enthält, ist die Glukonsäure, bei der die Aldehydgruppe des Traubenzuckers zu Karboxyl oxydiert ist. Bei vollständiger Oxydation sowohl der Alkohol- wie der Aldehydgruppe des Traubenzuckers entsteht Zuckersäure.

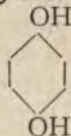
Zum Nachweise der Phenole werden a) 200 ccm Harn mit 50 ccm Salzsäure so lange destilliert, bis eine kleine Probe desDestillates mitBromwasser keine Trübung zeigt. Aus dem Destillate fällt man die Phenole mit Bromwasser als Tribromphenol- bezw. Tribromkresolverbindungen. Sollen geringe

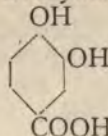
Spuren Phenole nachgewiesen werden, so muß man 500 ccm Harn mit Natriumkarbonat alkalisch machen, auf etwa 50 ccm eindampfen, und mit 10 ccm starker Salzsäure versetzt der Destillation unterwerfen. Will man die Prüfung quantitativ durchführen, so fügt man zum Destillate so lange Bromwasser bis eine bleibende Gelbfärbung entsteht, läßt einige Tage stehen, filtriert durch ein über Schwefelsäure getrocknetes und tariertes Filter, saugt ab, trocknet im Dunkeln über Schwefelsäure, bis das Gewicht nur geringfügig abnimmt, und wiegt. 331 Teile des Niederschlages entsprechen 94 Teilen Phenol oder 108 Teilen Kresol. Bei starkem Phenolgehalte scheidet der Harn oft schon nach unmittelbarem Zusatze einer Lösung von Brom in Salzsäure Tribromphenolverbindungen ab. Bei einer tödlich verlaufenden Vergiftung mit Phenol erhielt ich einen Harn zur Untersuchung, der auf Zusatz von etwas Bromsalzsäure zu einem Breie feiner Nadeln von Tribromphenolbrom erstarrte.

b) Zu einer weiteren Prüfung erhitzt man den Harn im Reagierglase mit etwas Salpetersäure. Bei Gegenwart von Phenol tritt der bittermandelartige Geruch des Orthonitrophenols auf. Nachdem die Probe erkaltet ist, bewirkt Bromwasser eine Abscheidung von Nitrotribromphenol.

Den Phenolen als Oxybenzolen schließen sich die Dioxybenzole an, insbesondere **Brenzkatechin** (o-Dioxybenzol) und **Hydrochinon,** (p-Dioxybenzol).







Brenzkatechin Hydrochinon Protokatechusäure

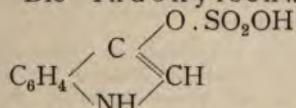
Auch sie finden sich in Form gepaarter, durch Säuren leicht zersetzlicher Verbindungen im Harne,

wenn auch normal nur in ganz geringen Mengen. Vermehrt treten sie auf nach Einführung von Phenol, Brenzkatechin, Hydrochinon, Protokatechusäure. Brenzkatechin haltender Harn wird an der Luft bald dunkel, besonders wenn er alkalisch ist. Er reduziert alkalische Kupferlösung in der Wärme. Zum Nachweise des Brenzkatechins kocht man den konzentrierten Harn nach Zusatz von etwas Schwefelsäure bis zur Verflüchtigung des Phenols, schüttelt nach dem Erkalten mit Äther aus, neutralisiert den Verdunstungsrückstand der Ätherlösung mit Baryumkarbonat, schüttelt nochmals mit Äther aus, und kristallisiert den Verdunstungsrückstand dieser Ätherlösung aus Benzol um.

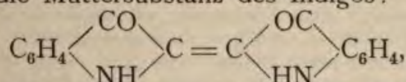
Hydrochinon bildet im Harne Zersetzungsprodukte, denen die dunkle Färbung des „Karbolharns" zuzuschreiben ist. Durch Eisenchlorid wird Hydrochinon in Chinhydron und Chinon übergeführt, das an seinem Geruche kenntlich ist.

Zwei sehr bekannte Produkte der Darmfäulnis sind das **Indol** $C_6H_4<\genfrac{}{}{0pt}{}{CH}{NH}>CH$ und das β-Methylindol oder **Skatol** $C_6H_4<\genfrac{}{}{0pt}{}{C\,CH_3}{NH}>CH$. Namentlich das Indol bildet sich bei Fäulnis der Eiweißstoffe, und zwar bei der lebhafteren Fäulnis im Darme der Pflanzenfresser in größerer Menge. Es findet sich auch beim Menschen vermehrt bei allen Krankheiten, die mit Unwegsamkeit des Dünndarmes und daher vermehrter Darmfäulnis verbunden sind. Das Indol wird als Indoxyl $C_6H_4<\genfrac{}{}{0pt}{}{C\,OH}{NH}>CH$, und

zwar gepaart mit Schwefelsäure oder mit Glukuronsäure aus dem Darme resorbiert und im Harne abgeschieden. Die Indoxylschwefelsäure



nennt man auch **Harnindikan** oder Uroxanthin (Heller). Sie kommt im Harne als Alkalisalz vor, und ist die Muttersubstanz des Indigos:



der aus dem Harne abgeschieden werden kann (beim Menschen 5—20 mg in 24 Stunden).

Wie schon aus den Formeln hervorgeht, ist der Indigo ein Oxydationsprodukt des Indikans. Will man dieses nachweisen, so muß man es zu Indigo oxydieren. Dazu wird Chlorkalklösung 1 + 19 (Jaffé) oder Eisenchlorid (Obermayer) verwendet. Man versetzt den Harn mit dem gleichen Raumteile starker Salzsäure und dann tropfenweise unter Umschütteln mit Chlorkalklösung. Den gebildeten Indigo schüttelt man mit 1 ccm Chloroform aus. Ein Überschuß der Chlorkalklösung ist zu vermeiden, weil dann Indigo zerstört werden kann. Die Reaktion verläuft langsam. Normaler Harn färbt sich in der Regel violett bis rotviolett, und gibt an Chloroform etwas Indigoblau ab.

Obermayer fällt, was bei gallehaltigen Harnen immer notwendig ist, den Harn mit wenig Bleiessig aus, filtriert durch ein trockenes Filter, versetzt das Filtrat mit dem gleichen Raumteile einer rauchenden Salzsäure von 1,19 spezifischem Gewichte, in der 0,2—0,4% trockenes Eisenchlorid gelöst sind, und schüttelt 1—2 Minuten lang stark durch. Dabei etwa aus jodhaltigem Harne ausgeschiedenes Jod

würde gleichfalls von Chloroform aufgenommen werden. Man entfernt es durch Schütteln der Chloroformlösung mit Natriumthiosulfatlösung, oder mit verdünnter Ätzlauge.

Anmerkung. Der Harn der Pflanzenfresser pflegt reich an Indikan zu sein, weil die Nahrung bei diesen Tieren länger im Darme verbleibt, und deshalb mehr fault. Man benützt daher als Vergleichsobjekt am besten solchen Harn, z. B. von Pferden (die aber bisweilen bei dem Versuche, ihren Harn aufzufangen, unruhig werden, ausschlagen usw., so daß man sich geeignete Tiere aussuchen muß). Solchen Harn verdunstet man auf dem Wasserbade und entzieht dem Rückstande mit absolutem Alkohol das Indikan. Die nach 24stündigem Stehenlassen leicht filtrierbare Flüssigkeit ist sehr lange haltbar; man setzt von ihr etwas zu normalem Harne, und kann dann leicht die Indikanreaktionen erhalten.

Farbstoffe. Die natürliche gelbe Farbe des Menschenharnes rührt von mehreren Farbstoffen, zum allergrößten Teile wohl von Urochrom her; daneben findet sich vielleicht etwas von dem durch Einwirkung von Säuren aus Hämin erhaltenen eisenfreien Farbstoffe, dem Hämatoporphyrin sowie das Uroerythrin, das die oft schön rote Farbe der Harnsedimente (sedimentum lateritium) bedingt. Das Hämatoporphyrin wird in größerer Menge durch den Harn nach dem Genusse von Sulfonal abgeschieden. Sonst besitzen diese und einige andere Farbstoffe wenig Wichtigkeit. Der Harn enthält außer ihnen einen farblosen Stoff, das Urobilinogen, das aber am Lichte einen Farbstoff, das Urobilin, bildet. Das Urobilin steht den Farbstoffen von Galle und Blut nahe. Es zeichnet sich durch seine starke Fluoreszenz und durch sein Absorptionsspektrum aus, und ist schwer von den anderen Harnfarbstoffen zu trennen. Seine Menge wechselt sehr (30—140 mg in 24 Stunden), sie ist erheblich nach Blutergüssen und bei allen Krankheiten, die mit einer Zerstörung der Blutkörperchen verbunden sind, ebenso nach

dem Genusse einiger Blutgifte, wie Antifebrin und Antipyrin. Sie ist ferner vermehrt bei Fieber, nach Behebung von Gallenstauung, und namentlich bei dem sogenannten Urobilinikterus.

Urobilin löst sich leicht in Alkohol, Amylalkohol, Chloroform, minder leicht in Äther und in Essigäther. In Wasser ist es schwer, bei Gegenwart von Neutralsalzen leichter löslich. Durch vollständige Sättigung des (mit Schwefelsäure versetzten) Harnes mit Ammonsulfat kann es gänzlich abgeschieden werden.

Zum Nachweise des Urobilins wird a) eine Probe spektroskopisch untersucht. Stark Urobilin enthaltende Harne zeigen unmittelbar, oder nach dem Versetzen mit einem Tropfen Salzsäure, den kennzeichnenden Absorptionsstreifen an der Grenze von grün und blau, zwischen b und F. Erforderlichenfalls ist der Harn zu verdünnen.

b) 10—20 ccm Harn werden mit einem Tropfen Salzsäure und 5 ccm Amylalkohol vorsichtig geschüttelt und die Amylalkohollösung spektroskopisch geprüft. Setzt man zur Amylalkohollösung eine einprozentige Lösung von Chlorzink in Ammoniak enthaltendem Alkohol, so zeigt sich Urobilin durch Fluoreszenz der Mischung an.

c) Versetzt man den Harn mit dem gleichen Raumteile einer 10%igen Lösung von Zinkazetat in absolutem Alkohol, so werden störende Stoffe niedergeschlagen und das Filtrat zeigt bei Urobilingehalt unmittelbar das Spektrum und die Fluoreszenz (Schlesinger).

d) Stark urobilinhaltige Harne geben mit Natronlauge und Kupfersulfat die Biuretreaktion.

e) Sollten diese Proben zu keinem Ergebnisse führen, so schüttelt man 50 ccm Harn mit 50 ccm alkohol- und säurefreiem Äther, verdunstet den abgehobenen Ätherauszug und nimmt den Verdun-

stungsrückstand mit 2—3 ccm absolutem Alkohol auf. Diese Lösung ist oft nur rein gelb, zeigt aber bei Urobilingehalt den Absorptionsstreifen und die grüne Fluoreszenz.

f) Schließlich kann man 200 ccm Harn mit Bleiazetat vollständig ausfällen. Man saugt den Niederschlag ab, wäscht einmal mit Wasser, saugt wieder gut ab, trennt den Niederschlag vom Filter und bringt ihn in einen Porzellanmörser, wo man ihn mit 5 g Oxalsäure zerreibt und dann mit einem Überschusse von absolutem Alkohol versetzt. Nach mehrstündigem Stehenlassen der Mischung wird filtriert. Einen Teil des Filtrates macht man ammoniakalisch, filtriert, und setzt einen Tropfen Chlorzinklösung zu. Urobilin verrät sich durch seine grüne Fluoreszenz und den Absorptionsstreifen. Treten diese Erscheinungen nicht deutlich ein, so reinigt man den Rest des alkoholischen Filtrates, indem man ihn im Scheidetrichter mit 20 ccm Chloroform und soviel Wasser schüttelt, daß das Chloroform sich gut absetzt. Die Chloroformlösung wird durch ein trockenes Filter filtriert, und vor sowie nach Zusatz von einem Tropfen alkoholischer Chlorzinklösung spektroskopisch untersucht.

Bei längerem Stehen des Harnes vermag sich das Urobilin so umzuwandeln, daß es, selbst wenn der Harn viel enthalten hatte, nicht mehr nachweisbar ist. Es ist daher zum Nachweise des Urobilins möglichst frischer Harn zu verwenden.

Anmerkung. Zur Herstellung eines sicher Urobilin enthaltenden Vergleichsstoffes zieht man frische menschliche Darmentleerungen mit etwa dem dreifachen Gewichte absolutem Alkohol aus, und benutzt zur Anstellung der Reaktionen das rotbraune Filtrat. Der Farbstoff ist auch in dieser Lösung nicht lange haltbar.

Melanotische Geschwüre lassen bisweilen einen Farbstoff entstehen, der als Chromogen, Melanogen, durch den Urin ausgeschieden wird, und sich dann durch Dunkelfärbung an der Luft zu erkennen gibt.

Salpetersäure, Bromwasser, Chromsäure, Eisenchlorid färben solchen Melanogen bezw. Melanin haltenden Harn dunkelbraun bis schwarz. Man lasse sich nicht durch die Färbungen des Urobilins oder des Indikans täuschen.

Schließlich sind hier noch zwei Stoffe zu besprechen, die häufig im Harne sich zeigen und als Zeichen dafür angesehen werden, daß die natürlichen Oxydationsvorgänge im Organismus nicht vollständig vor sich gehen. Es sind das: **nicht oxydierter Schwefel** und **Oxalsäure.**

Im allgemeinen wird der Schwefel im Organismus oxydiert, und verläßt ihn in Gestalt von Salzen der Schwefelsäure und der Esterschwefelsäuren. Diesen Anteil des abgeschiedenen Schwefels nennt Salkowski sauren Schwefel. Es werden aber auch andere, zum Teil unbekannte, Verbindungen abgeschieden, die Schwefel enthalten, wie Rhodanverbindungen, Zystin- Taurinstoffe und andere. Den Schwefel dieser Verbindungen nennt Salkowski neutralen Schwefel. Dieser soll bei normalem Harne etwa 15 % des Gesamtschwefels betragen. Die Ausführung der betreffenden Bestimmungen wird bei den Stoffwechsel-Untersuchungen besprochen werden. Hier soll nur der Nachweis des nicht oxydierten Schwefels Platz finden. Ein Stückchen reines Zink wird etwa 10 Minuten lang mit reiner Salzsäure angeätzt, dann abgespült, in ein Kölbchen gebracht, mit 50 ccm Harn und soviel Salzsäure übergossen, daß sich Wasserstoff entwickelt. Das entweichende Gas wird durch Filtrierpapier, das mit Bleisubazetatlösung getränkt ist, auf Schwefelwasserstoffgehalt geprüft. Nur die Verbindungen des neutralen Schwefels im Harne geben eine Schwärzung des Bleipapiers, nicht die der Schwefelsäure oder der Esterschwefelsäuren.

Zum Nachweise von Oxalsäure werden 500 ccm nicht filtrierten Harns auf etwa 150 ccm abgedampft, nach dem Erkalten mit 20 ccm offizineller Salzsäure versetzt, und im Scheidetrichter mit dem gleichen Raumteile einer Mischung aus 9 Vol. Äthyläther und 1 Vol. Äthylalkohol ausgeschüttelt, der Ätherauszug abgetrennt und die saure wässerige Flüssigkeit noch einmal mit frischer Ätheralkoholmischung ausgeschüttelt[1]). Die Ätherausschüttelungen werden nacheinander durch ein trockenes Filter in einen trockenen Kolben filtriert, und der Äther abdestilliert. Den Destillationsrückstand gießt man in eine Schale, spült den Kolben zuerst mit Alkohol, dann mit Wasser nach, erhitzt die Schale, bis deren Inhalt nicht mehr nach Äther oder Alkohol riecht, und läßt die nun wässerige Flüssigkeit (etwa 20 ccm) erkalten. Man filtriert, macht das Filtrat mit Ammoniak schwach alkalisch, fügt etwas Kalziumchloridlösung zu und säuert mit Essigsäure an. Bei Gegenwart von Oxalsäure scheidet sich weißes oder schwach gefärbtes Kalziumoxalat aus.

Die Identifizierung einer Flüssigkeit als Harn, zum Unterschiede von Punktionsflüssigkeiten und dergleichen, pflegt auf den Nachweis des gleichzeitigen Vorhandenseins von Harnstoff, Harnsäure und Kreatinin gegründet zu werden. Man verfährt dabei folgendermaßen:

1. Einige Kubikzentimeter der Flüssigkeit werden verdunstet, und der dickflüssige Rückstand nach dem Erkalten mit reiner Salpetersäure im Überschusse gemischt. Bei Gegenwart von Harnstoff kristallisiert dessen Nitrat in den bekannten Formen aus (S. 15).

[1]) Will man die Oxalsäure vollständig gewinnen, so muß mindestens viermal mit frischem Ätheralkohol ausgeschüttelt werden.

2. Aus 50—100 ccm der Flüssigkeit wird durch Zusatz von 1 ccm stärkster Salzsäure und 24stündiges Stehenlassen die Harnsäure in den gleichfalls unverkennbaren Formen ausgeschieden. Zu ihrer weiteren Identifizierung dient die Murexidprobe (S. 30).

3. Der Nachweis des Kreatinins wird mit Natriumnitroprussidlösung geführt (S. 37).

III. Bestimmungen einiger normaler Harnbestandteile, besonders für Stoffwechsel-Untersuchungen.

Schwefel. Die Ausscheidungen von Schwefel und von Stickstoff entsprechen bei ruhenden und bei arbeitenden Personen dem Umsatze von Eiweißstoffen. Die Menge des mit dem Harne ausgeschiedenen Schwefels kann daher auch als Maß der Eiweißzersetzung angesehen werden. Wie S. 47 bereits ausgeführt, unterscheidet man verschiedene Formen des Schwefels, die sich in die folgende Übersicht einreihen lassen:

Gesamtschwefel	Saurer Schwefel	Sulfate
		Estersulfate (ätherschwefelsaure Salze).
	Neutraler Schwefel	

Zu ihrer Bestimmung dienen die nachstehenden Verfahren:

A. Zur Bestimmung des Gesamtschwefels werden 25 ccm Harn in einer Platinschale bis auf einen kleinen Rest eingedunstet, dann mit einer Mischung aus 5 g wasserfreiem Natriumkarbonat und 15 g Kaliumnitrat gemischt, und das Ganze bei aufgelegtem Deckel vorsichtig bis zum völligen Weißwerden der Schmelze erhitzt. Man muß sich überzeugen, ob das Salpetergemisch ganz frei von Schwefel war; das Erhitzen nimmt man

mit Rücksicht auf den Schwefelgehalt des Leuchtgases am besten über der Weingeistlampe vor. Die Schmelze wird in Wasser gelöst, die Lösung in einen Kolben gespült, und dann vorsichtig in kleinen Mengen durch ein aufgesetztes Trichterchen 100 ccm offizineller Salzsäure zugefügt. Das Ganze wird mit dem Trichterchen auf dem Sandbade erhitzt, bis die Entwickelung der Gase vorüber ist. Die Flüssigkeit wird nun in einer Porzellanschale zur Trockne verdunstet, der Rückstand zwei Stunden lang bei 110° getrocknet, mit starker Salzsäure durchfeuchtet, eine halbe Stunde stehen gelassen, dann mit heißem Wasser aufgenommen, von der abgeschiedenen Kieselsäure in ein Becherglas abfiltriert und siedendheiß mit kochender verdünnter Chlorbaryumlösung in geringem Überschusse gefällt. Nachdem die Flüssigkeit ganz klar geworden ist, nötigenfalls nach 12—24-stündigem Stehenlassen, wird das Baryumsulfat abfiltriert, mit heißem Wasser chlorfrei gewaschen, getrocknet, geglüht und gewogen. Aus der erhaltenen Menge berechnet man die Menge des Gesamtschwefels.

B. Saurer Schwefel. Die Gesamtmenge des sauren Schwefels bestimmt man in 100 ccm Harn. Diese werden mit 10 ccm Salzsäure im Becherglase zum Sieden erhitzt und 10 Minuten lang darin erhalten, um alle Estersulfate unter Abspaltung von Schwefelsäure zu zerlegen. Dann fällt man mit 10—15 ccm heißer verdünnter Chlorbaryumlösung, wartet bis der Niederschlag sich in der heißen Flüssigkeit ganz klar abgesetzt hat (oder läßt das ganze bis zum nächsten Tage stehen), filtriert ab, wäscht mit heißem Wasser chlorfrei, wäscht zweimal mit Alkohol, indem man jedesmal das Filter damit vollgießt, wäscht ebenso einmal mit Äther, trocknet, glüht und wiegt. Die Menge des erhaltenen Baryumsulfats wird auf SO_4H_2 oder auf SO_3 umgerechnet. Man berechnet sie außerdem noch auf Schwefel.

C. Neutraler Schwefel. Zieht man von der in A erhaltenen Menge des Gesamtschwefels die in B gefundene Menge des in Form von Sulfaten und Estersulfaten als Gesamtschwefelsäure bestimmten sauren Schwefels ab, so erhält man die Menge des neutralen Schwefels.

D. Bestimmung der Estersulfate[1]). Diese Bestimmung beruht darauf, daß aus alkalischer Lösung Chlorbaryum die Sulfate, nicht aber die Estersulfate fällt. Macht man nach Abscheidung der Sulfate die Flüssigkeit sauer und kocht sie mit Salzsäure, so werden die Estersulfate zersetzt, und eine entsprechende Menge Baryumsulfat scheidet sich ab.

Zur Ausführung einer Bestimmung werden 100 ccm Harn mit 100 ccm einer Mischung aus 1 Vol. Chlorbaryumlösung und 2 Vol. Barytwasser gemischt, nach einigen Minuten wird durch ein trockenes Filter in ein trockenes Becherglas filtriert. Das Filtrat läuft bald ganz klar ab, trübt sich aber nachträglich durch Abscheidung von Baryumkarbonat. Von dem klar erhaltenen Filtrate werden 100 ccm mit Salzsäure schwach angesäuert, dann noch 10 ccm Salzsäure zugesetzt, 10 Minuten lang im Sieden erhalten, und dann wird weiter verfahren, wie unter B bei Bestimmung des sauren Schwefels angegeben, jedoch ohne daß nochmals Chlorbaryum zugesetzt wird; denn es befinden sich überschüssige Baryumsalze in der Lösung.

Größere Mengen Esterschwefelsäuren finden sich im Harne der Ileus-Kranken sowie nach dem Gebrauche von Phenol und anderen Verbindungen. Bei normalem Harne pflegt das Verhältnis der gepaarten zur gesamten Schwefelsäure = 1 : 10 zu sein.

---

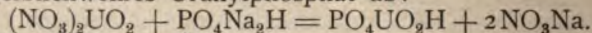
1) Der früher gebräuchliche Name Äther-Schwefelsäuren entspricht nicht der zur Zeit üblichen Bezeichnungsweise, die unter Äthern die Oxyde der Alkoholradikale versteht, während die Ester ein Alkoholradikal und ein Säureradikal enthalten.

Anmerkung. Will man sich estersulfathaltigen Harn herstellen, so löst man Natriumäthylsulfat in normalem Harne auf; die Hydrolyse der Äthylsulfate geht etwas schwerer vor sich, als die der Phenylsulfate.

E. Sulfate. Aus der Differenz der Gesamtschwefelsäure (B) und der Esterschwefelsäure (D) ergibt sich die Menge der als Sulfat zu berechnenden Schwefelsäure.

Phosphor. Der Phosphorgehalt der Nahrung, unter Umständen auch unter die Haut eingespritztes Phosphat, wird meist durch den Darm abgeschieden. Der Harn ist daher verhältnismäßig arm an Phosphaten. Die in 24 Stunden abgeschiedene Phosphatmenge schwankt sehr, sie wird auf 1–5 g P_2O_5 veranschlagt. Davon werden nach Ott etwa 60% als PO_4NaH_2 und 40% als PO_4Na_2H entleert.

Die Phosphate im Harne bestimmt man allgemein durch Titrieren mit Uranlösung. Versetzt man eine Natriumazetat haltende essigsaure Lösung von Dinatriumphosphat mit einer Lösung von Uranylazetat oder Uranylnitrat, so scheidet sich gelblichweißes Uranylphosphat ab:



$$(NO_3)_2UO_2 + PO_4Na_2H = PO_4UO_2H + 2\,NO_3Na.$$

Sobald Uran im Überschusse vorhanden ist, färbt sich die mit Kochenilletinktur versetzte Mischung grün.

Die Titerflüssigkeiten stellt man sich folgendermaßen dar:

1. Natriumphosphat-Titerlösung: 10,085 g reines trockenes, völlig unverwittertes Natriumphosphat, $PO_4Na_2H + 12\,H_2O$ werden zu 1 l gelöst. Hat man kein unverwittertes Salz, so löst man 12 g des verfügbaren, aber sonst chemisch reinen Dinatriumphosphates in 1150 ccm Wasser, pipettiert zweimal je 50 ccm dieser Lösung in eine Platinschale ab, dampft auf dem Wasserbade zur Trockene, trocknet bei 120° und glüht. Die Gewichte der beiden Rückstände von Natriumpyrophosphat $P_2O_7Na_4$

müssen bis auf Zehntel Milligramme übereinstimmen. Man nimmt aus ihnen das Mittel, berechnet daraus den Gehalt der Lösung an Natriumphosphat, $PO_4Na_2H + 12 H_2O$ oder an P_2O_5 und verdünnt so, daß die fertige Titerflüssigkeit 10,085 g $PO_4Na_2H + 12 H_2O$ im Liter oder 0,1 g P_2O_5 in 50 ccm enthält. Diese Flüssigkeit dient zum Einstellen der Uranlösung.

2. Azetatlösung: 100 g kristallisiertes Natriumazetat, 30 g Eisessig, mit Wasser zu 1 l gelöst.

3. Kochenilletinktur: 1 g zerstossene Kochenille wird mit 25 g 25%igem Alkohol einige Tage unter öfterem Umschütteln stehen gelassen, dann filtriert.

4. Uranlösung: Man löst 40 g Uranylnitrat, $(NO_3)_2UO_2 + 6 H_2O$ und 3 g Natriumazetat zu 1100 ccm Lösung, und stellt den Wirkungswert dieser Flüssigkeit gegen die fertig eingestellte Phosphatlösung fest. Zu diesem Zwecke mißt man 50 ccm der Phosphatlösung in ein Kölbchen, fügt 5 ccm der Azetatlösung und einige Tropfen Kochenilletinktur zu, erhitzt das Gemisch zum Sieden und läßt von der Uranlösung so lange zufließen, bis die umgeschüttelte und wieder zum Sieden erhitzte Mischung schwach, aber deutlich grün geworden ist. Aus der dauernd grün gewordenen Mischung setzt sich die den geringsten Überschuß des Uransalzes anzeigende grüne Verbindung von Uranyl und Kochenillefarbstoff zugleich mit dem Uranylphosphat zu Boden, und der Niederschlag erscheint dunkelgrün gefärbt. Diese Färbung soll nur schwach, also gerade sichtbar sein. Der Versuch wird noch einmal ausgeführt, und zur Berechnung das Mittel aus beiden Bestimmungen (die ganz oder nahezu übereinstimmen müssen) genommen. Hat man z. B. gefunden, daß 50 ccm Natriumphosphat a) 19,5 b) 19,7 ccm Uranlösung erfordern, so sind im Mittel 19,6 ccm Uranlösung

erforderlich und mit 0,4 ccm Wasser auf 20 ccm zu verdünnen. Zu 1000 ccm der geprüften Uranlösung muß man also $\frac{0,4 \cdot 1000}{19,6} = \frac{1000}{49} = 20,4$ ccm zufügen, um eine Lösung zu erhalten, von der 20 ccm 0,1 g P_2O_5 anzeigen.

Zur Ausführung einer Phosphatbestimmung im Harne werden 50 ccm Harn genau in der bei der Titerstellung der Uranlösung beschriebenen Weise titriert. Den Phosphatgehalt berechnet man in Grammen P_2O_5 für 1 l Harn. Bei stark gefärbtem (ikterischem) Harne benützt man als Endreaktion nicht die Grünfärbung mit Kochenille, sondern eine Tüpfelprobe mit Ferrozyankalium, das mit überschüssigem Uransalze einen braunen Niederschlag gibt.

Chlor. Die Menge der Chloride im Harne schwankt erheblich; ein gesunder erwachsener Mann scheidet bei gemischter Kost etwa 15—20 g NaCl in 24 Stunden mit dem Harne aus. Die Menge ist wesentlich abhängig von dem Salzgehalte der Nahrung. Wassertrinken steigert die Chloridausscheidung; bei Diarrhöen, schneller Bildung größerer Transsudate und Exsudate pflegt sie herabgesetzt zu sein.

Zur Bestimmung des Chloridgehaltes ist eiweißfreier Harn zu verwenden. Die Bestimmung nach Mohr ist nur für Harnasche zu empfehlen. Will man den Harn titrieren, so bedient man sich am besten der von Arnold ausgearbeiteten Abänderung des Volhardschen Verfahrens zur Chlorbestimmung. Dabei werden die Chloride in saurer Lösung mit Silberlösung von bestimmtem Gehalte ausgefällt, und der Überschuß der Silberlösung wird mit Rhodanlösung zurücktitriert. Als Endreaktion, die jeden Rhodanüberschuß anzeigt, dient die Rotfärbung der Rhodansalze mit Ferrisalzen.

Man benötigt folgende Lösungen:

1. Silberlösung: 30 g reines kristallisiertes Silbernitrat werden in einer reinen neuen Porzellanschale vorsichtig geschmolzen und dann im Exsikkator erkalten gelassen. Von dem auf diese Weise frei von Säure oder Nitrit erhaltenen Silbernitrat löst man 29,042 g zu 1 l. 1 ccm dieser Lösung entspricht 0,010 g NaCl.

2. Ferrilösung, eine Lösung von reinem (chlorfreiem) Ferrialaun in 3 Teilen Wasser.

3. Rhodanlösung, die im Liter 12,984 g reines Rhodanammon enthält. Da dieses Salz Wasser anzieht, macht man sich eine stärkere Lösung, etwa 18 g in 1100 ccm, und stellt diese auf die Silberlösung ein. Das geschieht, indem man 20 ccm der Silberlösung abmißt, 5 ccm der Eisenlösung zufügt und die Mischung tropfenweise mit reiner Salpetersäure versetzt, bis sie farblos geworden ist. Nun läßt man aus einer Bürette Rhodanlösung zufließen; jeder Tropfen erzeugt eine blutrote beim Umschwenken verschwindende Färbung, bis alles Silber als Rhodansilber gefällt ist. Darüber hinaus erzeugt der erste im Überschusse zugefügte Tropfen Rhodanlösung bleibende Rotfärbung, und diese bildet die Endreaktion des Versuchs. Sobald man den Wirkungswert der Rhodanlösung festgestellt hat, verdünnt man sie so, daß zur Fällung von 20 ccm Silberlösung genau 20 ccm Rhodanlösung verbraucht werden. Hatte man z. B. bei zwei Versuchen gefunden, daß a) 19,10, b) 19,20 ccm Rhodanlösung zur Fällung von 20 ccm Silberlösung erforderlich waren, so ist festgestellt, daß im Mittel 19,15 ccm Rhodanlösung 20 ccm Silberlösung entsprechen. Es müssen daher 19,15 ccm Rhodanlösung auf 20 ccm, 1000 Rhodanlösung also auf $\frac{20 \cdot 1000}{19,15} = 1044,4$ ccm ver-

dünnt werden. Man mißt also 1000 ccm der Rhodanlösung ab, und verdünnt sie mit 44,4 ccm Wasser. Die so hergestellte Lösung muß durch Ausführung von zwei weiteren Bestimmungen ihres Wirkungswertes gegen die Silberlösung auf ihre Richtigkeit geprüft werden.

Das verwendete Rhodanammon muß chlorfrei sein, weil die Endreaktion sonst nicht bestehen bleibt, sondern wieder verschwindet.

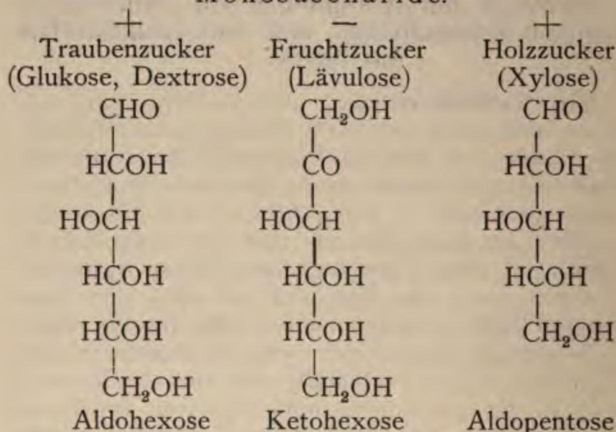
Will man nun den Chloridgehalt eines Harnes feststellen, so kann es vorkommen, daß beim Versetzen des Harns mit Salpetersäure eine Rotfärbung eintritt, die unsere Endreaktion unsicher machen würde. Diese Rotfärbung läßt sich aber durch etwas Permanganat zerstören. Man verfährt daher in folgender Weise: 10 ccm Harn werden in einem 100 ccm fassenden Meßkolben mit 20—30 Tropfen Salpetersäure, dann mit 2 ccm Ferrilösung versetzt. Wenn Rotfärbung eingetreten ist, fügt man tropfenweise eine etwa 10%ige Permanganatlösung zu, bis die Färbung des Permanganats nicht mehr schnell verschwindet, und der Harn hell weingelb geworden ist. Dann erst läßt man unter Umschwenken aus einer Bürette soviel der Silberlösung zufließen, bis eine weitere Menge keinen Niederschlag mehr bewirkt, also alle Chloride sicher in Chlorsilber verwandelt sind. Dann füllt man auf 100 ccm auf, mischt, filtriert durch ein trockenes Filter 50 ccm ab, und titriert diese mit der Rhodanlösung bis zur bleibenden Rotfärbung der Flüssigkeit. Die verbrauchte Menge Rhodanlösung wird auf das Ganze berechnet, also verdoppelt, und von der zugesetzten Menge Silberlösung abgezogen. Jeder Kubikzentimeter des Restes der Silberlösung entspricht 0,010 g NaCl.

IV. Nachweis und Bestimmung von pathologisch wichtigen Bestandteilen und von Arzneistoffen im Harne.

Die Kohlehydrate. Als Kohlehydrate bezeichnet man seit langer Zeit Verbindungeu aus Kohlenstoff, Wasserstoff, Sauerstoff, deren Wasserstoffgehalt gerade ausreichen würde, um mit dem Sauerstoffgehalte Wasser zu bilden, z. B. $C_6H_{12}O_6$. Unter ihnen sind besonders ausgezeichnet die Aldehyd- oder Ketonalkohole mit einer oder mehreren Hydroxylgruppen, bei denen sich ein Hydroxyl an dem mit dem Karbonyl direkt verbundenen Kohlenstoffatome befindet, die also die Oxyaldehyd- bezw. Oxyketon-Gruppe — CHOH — CO — enthalten; das sind die Monosaccharide. Sind diese Monosaccharide Aldehyde, so nennt man sie Aldosen, sind sie Ketone, so spricht man von Ketosen. Die Anzahl der Kohlenstoffatome wird durch Einfügung des betreffenden griechischen Zahlwortes in den Namen angegeben. Wird also ein Monosaccharid als Tetrose, Pentose, Hexose, Heptose bezeichnet, so bedeutet dies, daß in dem Moleküle des betreffenden Monosaccharids sich 4, 5, 6, 7 Kohlenstoffatome befinden. Am wichtigsten, verbreitetsten und am besten durchforscht sind die Hexosen, d. h. die Monosaccharide mit 6 Kohlenstoffatomen. Die Formeln am Anfange der nächsten Seite können als Beispiele dienen.

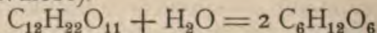
Außer den Monosacchariden finden sich in der Natur Verbindungen, die man sich durch Vereinigung mehrerer Moleküle der Monosaccharide unter Wasseraustritt gebildet denken kann, und die bei der Hydrolyse, also unter dem Einflusse verdünnter Säuren usw. Wasser aufnehmen, um in mehrere Moleküle der Monosaccharide zu zerfallen. Je nach der Anzahl der hierbei gebildeten Monosaccharid-Moleküle nennt man diese Verbindungen

Monosaccharide.



Disaccharide (Saccharobiosen)
Trisaccharide (Saccharotriosen)
Polysaccharide (Saccharopolyosen[1]).

Zu den Disacchariden gehört der Rohrzucker $C_{12}H_{22}O_{11}$. Wird er mit verdünnten Mineralsäuren erhitzt oder der Einwirkung gewisser ungeformter Fermente (Enzyme) z. B. Diastase unterworfen, so nimmt er die Elemente des Wassers auf, anders ausgedrückt, er wird hydrolysiert, und aus einem Moleküle Rohrzucker bildet sich ein Molekül Traubenzucker (Glukose) und ein Molekül Fruchtzucker (Lävulose).



$$C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O = 2\ C_6H_{12}O_6$$

Der ebenso zusammengesetzte Milchzucker, die Laktobiose, bildet in derselben Weise je ein Molekül Galaktose und Traubenzucker. Malzzucker bildet ebenso zwei Moleküle Traubenzucker.

[1]) Glukosane, wenn sie bei der Hydrolyse Glukosen entstehen lassen, Pentosane, wenn sie dabei Pentosen geben.

Den Trisacchariden ist die Raffinose (Melitriose) zuzuzählen, die bei der Hydrolyse ein Disaccharid, die Melibiose, und ein Monosaccharid, die Lävulose, entstehen läßt.

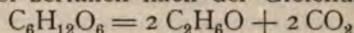
Zu den Polysacchariden gehören die höheren Kondensationsprodukte, z. B. die Stärke $(C_6H_{10}O_5)_n$, das Glukogen oder Leberstärke $(C_6H_{10}O_5)_n$, die Gummiarten $(C_6H_{10}O_5)_n$, Dextrine, Zellulose.

Vertreter aller dieser Gruppen können sich im Harne finden. Immer enthält der Harn des gesunden Menschen Kohlehydrate, von denen man drei sicher erkannt hat: Tierisches Gummi, Traubenzucker und Isomaltose. Unter pathologischen Verhältnissen kann der Harn bei Glukosurie Traubenzucker, bei Diabetes auch linksdrehenden Zucker und ein Polysaccharid, wahrscheinlich Glukogen, enthalten.

Bei Überfüllung des Darmes mit Traubenzucker, Milchzucker, Rohrzucker können kleine Mengen dieser Zuckerarten in den Harn übergehen. Man nimmt an, daß 200 g Traubenzucker von einem gesunden erwachsenen Menschen auf einmal verzehrt werden können, ohne daß Übertritt in den Harn erfolgt. Geht nach dem Genusse von 100 g Traubenzucker dieser in den Harn über, so gilt das bereits als pathologisch. Bei Stauung der Milchabscheidung in den Brustdrüsen kann Milchzucker im Harne erscheinen. Bei der ammoniakalischen Harngärung verschwinden die Kohlehydrate ganz oder teilweise aus dem Harne.

Zur Erkennung und Bestimmung der Kohlehydrate im Harne dienen chemische Reaktionen, biologische Vorgänge und physikalische Feststellungen. Das heißt: neben dem chemischen Verhalten dient uns vorzugsweise die Feststellung der Vergärbarbeit durch Hefe und die Bestimmung der Zirkularpolarisation zur Ermittelung der einzelnen Zuckerarten.

Die Gärprobe beruht darauf, daß die vergärbaren Zuckerarten unter dem Einflusse der Hefe, eines Sproßpilzes, und des durch den Lebensprozeß der Hefe gebildeten ungeformten Fermentes (z. B. Invertin) zerfallen. In den Gärungsgewerben werden die nicht unmittelbar gärungsfähigen Polysaccharide und Saccharobiosen durch Behandlung mit verdünnten Säuren, meist jedoch durch Einwirkung des Malzfermentes (der Diastase) oder auch nur durch das von der Hefe selbst erzeugte Invertin in Monosen umgewandelt, von denen dann günstigenfalls 94—95 % unter dem Einflusse der Gärung in Kohlendioxyd und Alkohol zerfallen nach der Gleichung:



$$C_6H_{12}O_6 = 2\ C_2H_6O + 2\ CO_2$$

Dieser Vorgang kennzeichnet das Wesen der Hefegärung. Daneben bilden sich Glyzerin, Bernsteinsäure und andere Stoffe. Das Fuselöl scheint aus vorhandenen Eiweißstoffen zu enstehen.

Unmittelbar gärungsfähig sind nur die Hexosen, von denen wir Traubenzucker und Fruchtzucker zu berücksichtigen haben. Ihre Lösungen beginnen bei der für Gärversuche günstigsten Wärme von 25—30° mit Hefe schon nach Bruchteilen einer Stunde zu vergären. Langsamer fängt Rohrzucker an, mit Hefe Kohlendioxyd zu entwickeln, doch tritt bei Anwendung reichlicher Hefemengen die Spaltung in Glukose und Lävulose, damit aber auch die Gärung bei 25—30° C in wenigen Stunden ein. Glücklicherweise haben wir die Gegenwart von Rohrzucker nicht zu berücksichtigen. Dagegen ist auf die Anwesenheit von Milchzucker zu achten. Dieser bildet schwieriger Monosaccharide, so daß er erst nach etwa 12 Stunden zu gären beginnt. Bemerkt man daher bei der Gärprobe innerhalb 6 Stunden keine Entwickelung von Kohlendioxyd, so ist keine Hexose, also weder Dextrose noch Lävulose vorhanden; bei Gegenwart von Milchzucker findet sich

nach Verlauf von 24 Stunden jedoch Kohlendioxyd gebildet. Harnpentose vergärt für sich nicht mit Hefe, kann jedoch bei Gegenwart vergärbaren Zuckers zum Teile mit diesem vergären. Die gepaarten Glukuronsäuren vergären nicht mit Hefe.

Vor Anstellung des Gärversuches ist die Reaktion des Harnes gegen Lackmuspapier festzustellen. Reagiert der Harn neutral oder alkalisch, so muß er mit verdünnter Essigsäure eben schwach angesäuert werden. Der für die Gärprobe bestimmte Harn darf keine konservierenden Zusätze enthalten. Ist zur Haltbarmachung ein Zusatz von Chloroform verwendet worden, so kann dies durch Aufkochen des Harnes verflüchtigt werden. Die Gegenwart der Antiseptika stört oder verhindert die Lebenstätigkeit der Hefe, so daß solch konservierter Harn für die Gärprobe nicht verwendbar ist. In jedem Falle empfiehlt es sich, den Harn vor Anstellung der Probe aufzukochen und damit die in ihm etwa enthaltenen Gärungs- und Fäulniserreger zum größten Teile abzutöten, so daß die Lebenstätigkeit der Hefezellen sich frei entfalten kann. Der aufgekochte Harn wird filtriert und erkalten gelassen. Als Hefe ist Preßhefe zu empfehlen, die von jedem Bäcker bezogen werden kann und sich, wenn sie nicht vertrocknet, viele Tage lang wirksam erhält. Man rührt sie mit etwa dem zehnfachen Gewichte destillierten Wassers an, läßt absetzen, gießt die über dem Bodensatze befindliche Flüssigkeit ab und sammelt die Hefe auf einem Kolatorium oder auf einem Filter. Dadurch wird sie von den etwa zu ihrer Erhaltung in geringen Mengen zugesetzten vergärbaren Stoffen befreit. Von dieser teigförmigen Hefe setzt man etwa 0,1 g auf je 10 ccm dem Harne zu, verrührt sorgfältig, ohne durch Schütteln Luftblasen zu erzeugen, und füllt das Gemisch in das Abb. 5 dargestellte Gärungssaccharimeter. Durch Neigen des

Gefäßes wird der lange oben geschlossene Schenkel mit dem Harnhefegemisch so gefüllt, daß nach dem Aufrichten keine Luftblasen am Scheitel des langen Schenkels sich zeigen, und nur der unterste Teil der kugelförmigen oben offenen Erweiterung noch Flüssigkeit enthält. Die Erweiterung soll ausreichen, alle durch die mit der Gärung verbundene Gasentwickelung aus dem geschlossenen Schenkel herausgetriebene Flüssigkeit aufzunehmen. Die Mündung des offenen Schenkels wird mit einem Wattebausch lose verstopft. Man läßt das Gärgefäß nun am besten bei 25—30° (jedenfalls nicht unter 15° C) stehen, und beobachtet von Zeit zu Zeit die Probe. Einige wenige kleine Gasbläschen, die sich am Scheitel des geschlossenen Rohres zeigen, können von einer Selbstgärung der Hefe herrühren und sind nicht auf Zucker zu beziehen. In der Regel ist bei 25° C nach 24 Stunden die Umsetzung des Zuckers durch die Hefe beendet. Tritt die Gärung alsbald ein, so war rechtsdrehende Glukose oder linksdrehende Lävulose zugegen; begann sie erst nach 6—12 Stunden, so kann der rechtsdrehende Milchzucker vorliegen. Man unterscheidet diese Zuckerarten mit Hilfe des Polarisationsapparates und ihres chemischen Verhaltens.



Abb. 5. Gärungssaccharimeter.

Man hat versucht, durch Messung der Gärungs-Produkte die Menge des vorhanden gewesenen Zuckers quantitativ zu bestimmen. Die Versuche führen natürlich nur zu sehr rohen Schätzungen, denn Art und Menge der Gärungsprodukte schwanken je nach der Beschaffenheit der Hefe, der gärenden Mischung, der Gär-Temperatur und anderen Umständen sehr erheblich. Von Genauigkeit kann daher bei diesen

Verfahren nicht die Rede sein, doch erfüllen sie für den Kliniker trotzdem ihren Zweck.

Einhorn hat den längeren Schenkel des oben gezeichneten, nach ihm benannten Gärungs-Saccharimeters mit einer empirischen Teilung versehen, die eine Schätzung des Zuckergehaltes nach der Menge des entwickelten Gases ermöglicht. Von anderen Forschern wurde das Gärungssaccharimeter weiter ausgebildet, bis es in den von Lohnstein angegebenen Formen wohl seine vollkommenste Gestalt erreicht hat. Alle diese Geräte messen das entwickelte Kohlendioxyd. Man kann aber auch das Kohlendioxyd frei entweichen lassen, den in der Flüssigkeit gelöst gebliebenen Rest mit Baryt binden, und in der so erhaltenen vergorenen Flüssigkeit den Alkoholgehalt vaporimetrisch bestimmen. Schließlich kann man nach einem Vorschlage von Roberts das spezifische Gewicht vor und nach der Vergärung (bei genau der gleichen Temperatur und bis auf die vierte Dezimale) bestimmen, und aus dem Unterschiede der gefundenen Dichten mit Hilfe eines durch zahlreiche Versuche gefundenen Faktors den Zuckergehalt berechnen. Die beiden letzten Arbeitsweisen haben sich wenig Eingang verschafft; sie besitzen alle Fehler der Gärungsverfahren ohne so einfach zu sein wie die Messung des Kohlendioxyds.

Zur Feststellung des Verhaltens im polarisierten Lichte dienen uns Saccharimeter oder Polarimeter. Die ersteren sind mit einer Teilung versehen, die unmittelbar Prozente einer Zuckerart ablesen läßt, also für Rohrzucker oder Traubenzucker oder Milchzucker usw. bestimmt ist; die Polarimeter gestatten die Ablesung des Winkels, um den eine bestimmte Flüssigkeitssäule die Ebene des polarisierten Lichtes dreht. Aus dieser Drehung, der Länge der Flüssigkeitssäule und dem spezifischen Gewichte der untersuchten

Flüssigkeit kann ihr Prozentgehalt an einer bestimmten Zuckerart ermittelt werden. Hat man zwei Zuckerarten, z. B. Dextrose und Lävulose, und kennt man deren Gesamtmenge, so kann man aus dem Drehungsvermögen und dem spezifischen Gewichte ihrer Lösung das Verhältnis der beiden Zuckerarten zu einander berechnen. Man kann auch ein Polarimeter durch Verwendung eines Flüssigkeitsrohres von entsprechender Länge in ein Saccharimeter umgestalten, so daß jeder abgelesene Grad der Kreisteilung einem Prozente der betreffenden Zuckerart entspricht. Das betreffende Flüssigkeitsrohr gestattet nur für die eine Zuckerart, für die es bestimmt ist, unmittelbare Prozentablesungen, für andere Zuckerarten müssen die Ergebnisse mit Hilfe entsprechender Faktoren umgerechnet werden. Auch Polarisationsmikroskope hat man mit entsprechenden Flüssigkeitsröhren ausgestattet, doch empfiehlt sich diese Anordnung nicht, weil dadurch die Diaphragmen im Inneren der Mikroskopröhren fortfallen oder so weit gestaltet werden müssen, daß die Schärfe des mikroskopischen Bildes leidet.

Die kleinen Polarisationsapparate für Harnuntersuchungen zeigen gewöhnlich als Skala eine Kreisteilung von ganzen oder halben Graden bezw. Prozenten Traubenzucker (Dextrose) an. Mit einer Hilfsteilung, die man Nonius nennt, lassen sich Zehntel-Prozente ablesen. Die großen Polarimeter pflegen eine in Viertelgrade geteilte Kreisteilung zu besitzen und mit Hilfe des Nonius entweder sechzigstel Grade (Minuten) oder hundertstel Grade (Dezimalsystem) ablesen zu lassen. Die Kreisteilung selbst nennt man Limbus. Der ganze Kreis ist in der Regel zunächst von 0^0 ausgehend in 360 gleiche Teile geteilt, so daß Teilstrich 0 mit Teilstrich 360 zusammenfällt, oder jeder Quadrant ist für sich geteilt. Die Ablesung an der Teilung des Limbus geschieht nun

gegen die nach einer oder nach beiden Seiten laufende Hilfsteilung des Nonius, die in gleicher Ebene und Richtung wie der Limbus angebracht ist. Entweder steht der Nonius fest und der Limbus ist beweglich, oder der Limbus steht fest und der Nonius ist an dem Limbus entlang beweglich. Es handelt sich bei allen Ablesungen darum, den Stand von Nonius und Limbus gegeneinander festzustellen, also in der Regel die Größe der stattgehabten Drehung des Limbus gegen den Nonius abzulesen. Zu diesem Behufe zeigt der Nonius einen 0-Strich; bildet dieser mit dem 0-Strich des Limbus eine gerade Linie, so befindet sich die ganze Skala in der Anfangs- oder 0-Stellung. Der Nonius besitzt nun eine Teilung, die zu der des Limbus in bestimmtem Verhältnisse steht. Die Skala Abb. 6 zeigt ein Stück eines in Vierteleinheiten geteilten Limbus (vergrößert). Jede Einheit des Limbus soll einem Kreisgrade entsprechen, jede Vierteleinheit gibt also $15'$ an. Mit Hilfe des Nonius soll noch $1'$ gemessen werden. Zu diesem Zwecke ist die 14 Vierteleinheiten gleiche Strecke des Nonius in 15 gleiche Teile eingeteilt. 15 Teile Nonius = 14 Viertelteile Limbus, 1 Noniusteil $= \frac{14}{15}$ Viertelgrade; oder jeder Noniusteil ist $\frac{1}{15}$ Viertelgrad $= 1'$ kleiner als die Teilung des Limbus. Darauf beruht die Messung mit Hilfe des Nonius. Bei Ausführung einer Messung liest man die Grade und Viertelgrade des Limbus ab, die vom 0-Striche des Nonius erreicht oder überschritten sind; auf der Abb. 6 ist dies $0^0\,30'$. Der Teilstrich $0{,}5^0$ ist aber vom 0-Strich des Nonius

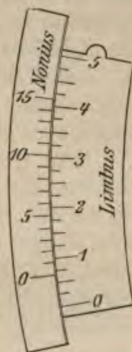


Abb. 6. Skala.

überschritten. Zur Messung dieser Überschreitung ist der Nonius bestimmt. Auf ihm liest man in der Richtung der Teilung nach wachsenden Zahlen die Teile bis zu dem Teilstriche ab, der mit einem Teilstriche des Limbus zusammenfällt, d. h. eine gerade Linie bildet. Auf der Abb. sind dies 12 Teile = 12′. Dieser Betrag muß der Limbusablesung von 30′ hinzu addiert werden; die Gesamtverschiebung der beiden 0-Punkte gegeneinander beträgt also 42′. Soll bei einer Einteilung des Limbus in Viertelgrade = 0,25° der Nonius Hundertstelgrade = 0,01° anzeigen, so muß die 24 Teilen des Limbus entsprechende Strecke des Nonius in 25 Teile geteilt sein; jeder Teilstrich des Nonius wäre dann um 0,01° kleiner als ein Teilstrich des Limbus usw.

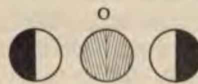
Am gebräuchlichsten für Harnuntersuchungen sind zurzeit die Halbschattenapparate. Einen solchen zeigt Abb. 7 S. 67 in einfachster Form. P ist der Polarisator, R das zur Aufnahme der Flüssigkeit bestimmte Rohr, A der Analysator, F ein kleines Fernrohr zur scharfen Einstellung der Trennungslinie im Sehfelde. Zur Beleuchtung benützt man das einfarbige Licht einer Natriumflamme. Dies wird bei P polarisiert und zwar so, daß es den Polarisator in zwei gradlinig polarisierten Bündeln verläßt, deren eines die linke, deren anderes die rechte Hälfte des Sehfeldes einnimmt, und deren Schwingungsrichtungen einen kleinen Winkel miteinander bilden. Dieser Winkel bedingt den Halbschatten. Steht die Schwingungsrichtung des Analysators senkrecht auf der Halbierungslinie des Winkels, so erscheint das ganze Sehfeld gleichmäßig halbdunkel, d. h. im Halbschatten. Diese Stellung ist die 0-Stellung des Apparates, und bei 0°, 90°, 180°, 270° tritt jedesmal Halbschatten ein. Füllt man das Polarisationsrohr mit einer Flüssigkeit, die auf die Ebene des polarisierten

Lichtes einwirkt, so wird diese gedreht, die beiden Hälften des Sehfeldes erscheinen in ungleicher Hellig-



Abb. 7.
Kleiner Polarisationsapparat für Harnuntersuchungen.

keit (Abb. 8), und man muß den Analysator im entgegengesetzten Sinne drehen, um wieder Halbschatten herzustellen. Der Betrag dieser Drehung entspricht also der optischen Wirkung der Flüssigkeit. Das ist die Grundlage der Polarimetrie. Wesentlich für jeden Versuch ist, daß das Fernrohr F die Trennungslinie des Sehfeldes vollkommen scharf zeigt,



Halbschatten
Abb. 8.
Sehfeld des Polarisationsapparates.

sowie daß die zu polarisierende Flüssigkeit völlig klar ist, da sonst nicht deutlich eingestellt werden kann. Eine schwache Färbung der Flüssigkeit ist ohne Bedeutung für das Ergebnis der Polarisation bei den Halbschatten-Apparaten.

Bei den neuesten großen Halbschattenapparaten ist das Sehfeld in drei Teile geteilt, von denen entweder der mittelste dunkel und die beiden seitlichen hell, oder der mittelste hell und die seitlichen dunkel erscheinen. Bei der 0-Stellung sind die drei Teile ganz gleichmäßig halbdunkel. Das Fernrohr muß je nach der Länge des benützten Rohres etwas verschieden eingestellt werden und zwar stets so, daß die Trennungslinien im Sehfelde klar und scharf erscheinen. Als Normaltemperatur gilt bei diesen optischen Bestimmungen gewöhnlich $+ 20^0$ C.

Zeigt die Ablesung nach Einschaltung eines zirkular polarisierenden Stoffes (und Einstellung auf gleichmäßige Halbschatten) wachsende Zahlen, so ist das Vorzeichen der Drehung positiv, +; sinken die Zahlen, so ist das Vorzeichen negativ, —.

Spezifische Drehung oder Drehungskonstante nennt man bei festen Körpern (Kristallen) den Drehungswinkel für die Längeneinheit des durchstrahlten Körpers. Bei drehenden Flüssigkeiten und Lösungen aktiver Stoffe in nicht drehenden Lösungsmitteln bezieht man die Drehung auf die Masseneinheit des drehenden Stoffes. Enthält die Flüssigkeit in 1 ccm die Masse k gr des Stoffes, und gibt die Schicht von der Länge l den Drehwinkel α bei Natriumlicht, also dem Lichte der Spektrallinie D, was durch den Index D, also α_D bezeichnet wird, so ist die spezifische Drehung (deren Angabe durch eckige [Klammern] ausgezeichnet zu werden pflegt) $[\alpha]_D = \frac{\alpha}{l \cdot k}$. Hat eine Lösung das spezifische Gewicht s und den Gewichts-Prozentgehalt p, so ist

$k = \frac{p \cdot s}{100}$; dieser Wert oben eingesetzt gibt $[\alpha] = \frac{100\,\alpha}{l \cdot p \cdot s}$, und hieraus ergibt sich, falls $[\alpha]$ bekannt, p aber unbekannt ist $p = \frac{100\,\alpha}{[\alpha] \cdot l \cdot s}$. Bei unseren Versuchen handelt es sich stets um verdünnte wässerige Lösungen von dem ungefähren spezifischen Gewichte 1, so daß ohne wesentlichen Fehler das spezifische Gewicht s meist unberücksichtigt bleiben kann. Berücksichtigt wird es bei Einführung des Begriffes der Volumprozente, der sogenannten Konzentration = c. Ist s die Dichte einer Lösung, so ist $c = p \cdot s$. Ist α der Konzentration einer Lösung proportional, so kann man aus α auf c schließen. Das ist die Grundlage der polarimetrischen Saccharimetrie. Übrigens trifft diese Voraussetzung keineswegs bei allen Stoffen zu, auch ist das Drehungsvermögen vieler Verbindungen abhängig von der Natur des an sich nicht drehenden Lösungsmittels, oft auch von der Temperatur.

Im Harne sind nun hauptsächlich drei pathologisch vorkommende Zuckerarten zu unterscheiden, die optisch aktiv sind, nämlich Traubenzucker, Fruchtzucker, Milchzucker. Die Harnpentose oder Arabinose ist selbst optisch inaktiv, kann aber in einen rechts- und einen linksdrehenden Bestandteil gespalten werden. Wie bereits gesagt, ist sie für sich bei der Gärprobe auch nicht gärungsfähig. Dagegen zeigen außer den Zuckerarten noch die etwa im Harne anwesenden gepaarten Glukuronsäuren Einwirkung auf das polarisierte Licht; sie sind linksdrehend. Da nun fast jeder Harn kleinere oder größere Mengen gepaarter Glukuronsäuren enthält, so findet man auch bei fast jedem normalem Harne eine geringe Linksdrehung, aus der jedoch noch keineswegs auf das

Vorhandensein einer linksdrehenden Zuckerart geschlossen werden darf. Andererseits wird diese natürliche Linksdrehung die Anwesenheit geringer Mengen rechtsdrehenden Zuckers verdecken können. Das ist eine Fehlerquelle bei der polariskopischen Erkennung und Bestimmung der Zuckerarten, die man wohl im Auge behalten muß. Für die qualitative Prüfung ist sie ohne Bedeutung, da hier der Gärversuch und die chemischen Prüfungen das Ergebnis richtig stellen. Der dadurch bei quantitativen Bestimmungen bedingte Fehler ist meist sehr gering, jedenfalls nicht größer als die Fehler anderer Verfahren, so daß man um seinetwillen nicht von der Anwendung des optischen Verfahrens absehen wird.

Traubenzucker (Harnzucker, Glukose, Dextrose, Stärkezucker) ist der bei Zuckerharnruhr reichlich vorkommende Bestandteil des Harnes. Spuren können auch im Harne Gesunder enthalten sein. Er kann in drei verschiedenen Formen erhalten werden, die alle nach rechts drehen, aber verschiedenes Drehungsvermögen besitzen[1]). Wasserfreier Traubenzucker zeigt in seiner lösungsbeständigen β-Form

---

[1]) Für die α-Form ist $[\alpha]_D = 106^0$ mindestens
" " β- " " $[\alpha]_D = 52^0,5$, dies ist die in Lösungen beständige Form
" " γ- " " $[\alpha]_D = 22^0,5$ höchstens (Tanret). In verdünnter wässeriger Lösung wandelt sich die Form α um in β; die Umwandlung vollzieht sich beim Kochen in wenigen Minuten, bei 15^0 in 7—8 Stunden, bei 0^0 in länger als 30 Stunden und bleibt in konzentrierter Lösung unvollständig. Zusatz von Kali bewirkt sofort vollständige Umwandlung. Je nach der in Lösung befindlichen Form zeigt also die frisch bereitete Lösung des Traubenzuckers ein anderes Drehungsvermögen, als eine ältere Lösung. Diese Eigenschaft findet sich auch bei anderen Zuckerarten, man hat sie Birotation oder Multirotation genannt. Sie kommt bei der polarimetrischen Harnuntersuchung nicht in Betracht, weil im Harne stets eine Lösung vorliegt, die ihr volles Gleichgewicht erreicht hat.

in wässeriger Lösung eine spezifische Drehung $[\alpha]_D = 52{,}6^0$, die jedoch mit der Konzentration, wahrscheinlich den betreffenden Gleichgewichtszuständen entsprechend, zunimmt. Die Zunahme drückt Tollens durch die Formel aus:

$$[\alpha]_D = 52{,}50 + 0{,}018796\,p + 0{,}00051683\,p^2,$$

in der p Gramme Zucker in 100 g Lösung bedeutet. Diese Formel gilt für wasserfreien Traubenzucker und für alle Konzentrationen von 1—100%.

Fruchtzucker (Fruktose, Lävulose) ist linksdrehend. $[\alpha]_D^{20^0} = -(91{,}90 + 0{,}111\,p)$ nach Ost, der für reinen Invertzucker $[\alpha]_D^{20^0} = -(19{,}82 + 0{,}04\,p)$ angibt. Fruchtzucker ist noch leichter zersetzlich als Traubenzucker; er wird insbesondere beim Erhitzen mit verdünnter Salzsäure nicht unerheblich zerstört. Oxalsäure und verdünnte Essigsäure wirken weniger zersetzend auf ihn ein. Das ist bei der Invertierung von Rohrzucker zur polarimetrischen Bestimmung des Invertzuckers zu berücksichtigen.

Milchzucker (Laktose) kristallisiert mit 1 H_2O und dreht die Ebene des polarisierten Lichtes nach rechts. Beim Erhitzen mit verdünnten Mineralsäuren zerfällt er in gleiche Moleküle Galaktose und Traubenzucker, die beide ebenfalls nach rechts drehen, und zwar die Galaktose stärker als der Milchzucker. Schmöger fand für kristallisierten Milchzucker $[\alpha]_D^{20^0} = 52{,}5^0$, also $= 55{,}26^0$ für wasserfreien Milchzucker. Die spezifische Drehung ist bis zu einem Gehalte von 36% unabhängig von der Konzentration der Lösung, aber abhängig von der Temperatur, sie sinkt mit steigender Temperatur, und zwar in der Nähe von 20^0 für jeden Temperaturgrad um etwa $0{,}075^0$. Das gilt für die stabile oder β-Form des Milchzuckers, denn auch dieser kommt in drei

rechtsdrehenden Formen[1]) vor, die verschieden stark drehen. Der Milchzucker besitzt also, wie der Traubenzucker, Birotation, doch bildet sich in Lösungen die beständige β-Form bei Zimmertemperatur in längstens 8 Stunden aus. Eine mit 0,1 %igem Ammoniak hergestellte Lösung zeigt sogleich beständig bleibende Drehung. In Natriumhydroxyd enthaltender Lösung dreht der Milchzucker schwächer als in neutraler Flüssigkeit.

Fruchtzucker läßt sich neben Traubenzucker ermitteln, indem man eine Probe des Harns polarisiert und erforderlichenfalls die Linksdrehung vorhandenen Nichtzuckers dabei berücksichtigt, in einer anderen Probe aber den reduzierenden Zucker mit Fehlingscher Lösung (nach S. 82) bestimmt. Ergibt die Titrierung wesentlich mehr Zucker als die Polarisation, so ist die Anwesenheit von Fruchtzucker wahrscheinlich (s. S. 79 u. 85). Das ist zu berücksichtigen, wenn die Ergebnisse der Polarisation voll verwertet werden sollen.

Diese Verhältnisse muß man sich klar machen, ehe man zur **polarimetrischen Untersuchung eines Harnes** schreitet, und sie sind während einer solchen stets im Auge behalten. Der zu polarisierende Harn muß völlig klar filtriert, und darf nicht zu dunkel sein. Filtriert ein Harn nicht klar oder ist er zu dunkel, so versetzt man 50 ccm mit 5 ccm einer Lösung von normalem Bleiazetat in 3 Teilen Wasser, und filtriert nach einiger Zeit. Dadurch erhält man in fast allen Fällen den Harn klar und hinreichend farblos. Das Volumen ist um 1/10 vermehrt, so daß man statt

1) Für die α-Form ist $[\alpha]_D = 92{,}6^0$, wasserfrei, wahrscheinlich zu niedrig.
" " β- " " " $= 56{,}0^0$, wasserfrei, dies ist die in Lösungen beständige Form.
" " γ- " " " $= 34{,}5^0$, wahrscheinlich zu hoch, nach Tanret.

eines 200 mm langen Rohres ein solches von 220 mm Länge anwenden, und die Drehung doch ohne weiteres auf das 200 mm Rohr beziehen kann. Verfügt man nicht über solche um $^1/_{10}$ längeren Röhren, so muß man die abgelesene Drehung für das verwendete Rohr um $^1/_{10}$ erhöhen. Durch neutrales Bleiazetat wird Zucker nicht gefällt. Die Entfärbung des Harnes durch Tierkohle ist nicht zu empfehlen, da sie länger dauert, und die Kohle Zucker zurückhält. Enthält der Harn Eiweiß, so muß es abgeschieden werden. Zu diesem Zwecke prüft man den Harn auf seine Reaktion gegen Lackmuspapier; ist diese alkalisch oder schwach sauer, so setzt man tropfenweise Essigsäure zu, bis die Reaktion eben deutlich sauer ausfällt, und das Filtrat einer aufgekochten Probe auf Zusatz von Ferrozyankalium klar bleibt. Alsdann erhitzt man eine abgewogene oder abgemessene Menge des Harnes, bis das Eiweiß unlöslich abgeschieden ist, bringt nach dem Erkalten mit Wasser auf das ursprüngliche Gewicht oder Volumen und filtriert. Linksdrehenden Nichtzucker ermittelt und bestimmt man im Harne durch Vergärung mit Hefe und polarimetrische Prüfung der vergorenen und mit Bleizucker geklärten Flüssigkeit. Die so ermittelte Drehung muß von der ursprünglichen des Harnes in Abzug gebracht werden, wenn man die dem Zuckergehalte allein zukommende Drehung ermitteln will.

Was die Ausführung eines Polarisationsversuches betrifft, so ist darüber ganz allgemein noch folgendes zu bemerken: Die Polarisationsröhren sind Röhren von genau bestimmter Länge; sie sind an den Enden eben abgeschliffen und werden durch Auflegen runder Glasplättchen geschlossen, die mit Hilfe einer Verschraubung leicht an die Öffnung gedrückt werden. Man füllt ein solches bereits auf der einen Seite geschlossenes Rohr mit der zu untersuchen-

den Flüssigkeit so voll, daß die Flüssigkeit eine kleine Kuppe über der offenen Mündung bildet, legt das zweite Verschlußplättchen auf, indem man gleichzeitig die hervorquellende überschüssige Flüssigkeit mit Filtrierpapier aufnimmt, und verschraubt dann auch das zweite Ende, wobei man jeden überflüssigen Druck vermeidet, weil dieser störende Polarisationserscheinungen in den gedrückten Deckgläschen hervorrufen könnte. Das gefüllte Rohr bringt man zwischen Polarisator und Analysator des Polarisationsapparates, und beobachtet bei möglichst kräftiger Beleuchtung. Alle Ergebnisse werden auf die Einheit der Röhrenlänge = 100 mm oder 1 dm umgerechnet. Bei den Saccharimetern mit Prozentskala oder bei Verwendung eines Saccharimeterrohrs, dessen Länge so justiert ist, daß die betreffende Teilung Prozente angibt, findet natürlich keine Umrechnung auf eine andere Rohrlänge statt; nur eine stattgehabte Verdünnung oder dergleichen ist zu berücksichtigen. Die Berechnung des Prozentgehalts p aus dem gefundenen Drehungswinkel α geschieht nun in folgender Weise: Es werde das spezifische Gewicht s dieser verdünnten Zuckerlösungen = 1 angenommen und es sei:

1. Bei einer Rohrzuckerlösung: $\alpha = 1{,}31^0$, $l = 1{,}00$ dm. Nun ist für Rohrzucker $[\alpha]_D^{20^0} = 66{,}5^0$. Wir haben S. 69 die Formel gefunden $p = \frac{100 . \alpha}{[\alpha] . l . s}$; für unsere Zwecke können wir ohne wesentlichen Fehler $s = 1$ (annähernd) annehmen. Somit haben wir, die Werte des Versuches in obige Formel eingesetzt:

$$p = \frac{100 . 1{,}31}{66{,}5 . 1{,}00 . 1} = \frac{131}{66{,}5} = 1{,}97\,\%.$$

2. Bei einer Invertzuckerlösung: $\alpha = -0{,}59^0$, $l = 2{,}00$ dm. Für Invertzucker ist $[\alpha]_D^{20^0} = -19{,}82^0$,

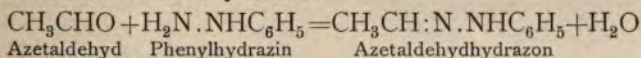
wobei die Korrektionsglieder für den Prozentgehalt (S. 71) und für die Wärmegrade (die Drehung nimmt mit steigendem Wärmegrade stetig ab) als unerheblich vernachlässigt werden. Es ergibt sich mithin

$$p = \frac{100 \cdot 0{,}59}{19{,}82 \cdot 2 \cdot 1} = \frac{59}{39{,}64} = 1{,}49\,\%.$$

3. Bei einer Dextroselösung: $\alpha = 2{,}24$, $l = 2{,}20$ dm. Nach S. 71 betrug $[\alpha]_D^{20} = 52{,}6$. Daraus ergibt sich

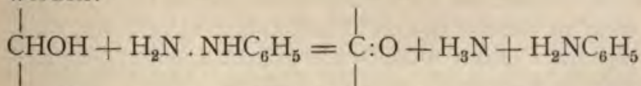
$$p = \frac{100 \cdot 2{,}24}{52{,}6 \cdot 2{,}20 \cdot 1} = \frac{224}{115{,}75} = 1{,}95\,\%.$$

Der chemische Nachweis der Zuckerarten gründet sich in erster Reihe auf das Verhalten ihrer Karbonylgruppe $\left(>C = O\right)$ gegen Phenylhydrazin, $H_2N-NHC_6H_5$. Bei Einwirkung eines Moleküls Phenylhydrazin auf ein Molekül Aldehyd oder Keton bildet sich Wasser, und der Sauerstoff des Karbonyls wird durch den Phenylhydrazinrest ersetzt, es entsteht ein Hydrazon:



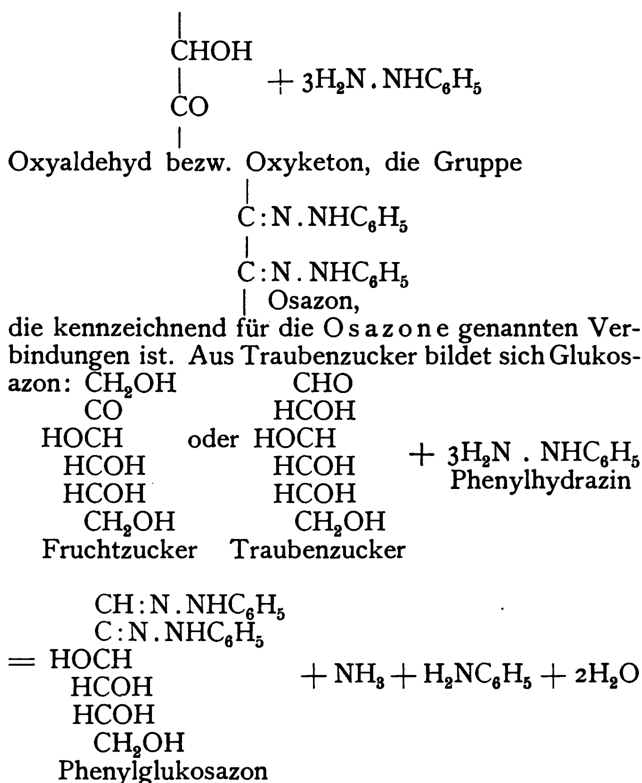
$$\underset{\text{Azetaldehyd}}{CH_3CHO} + \underset{\text{Phenylhydrazin}}{H_2N.NHC_6H_5} = \underset{\text{Azetaldehydhydrazon}}{CH_3CH:N.NHC_6H_5} + H_2O$$

Bei den Zuckerarten entfaltet sich dann noch eine weitere Wirkung des Phenylhydrazins, durch die der dem Karbonyl benachbarten Alkoholgruppe zwei Wasserstoffatome entzogen und damit einerseits Anilin und Ammoniak, anderseits Karbonyl gebildet werden:



$$\overset{|}{\underset{|}{C}}HOH + H_2N.NHC_6H_5 = \overset{|}{\underset{|}{C}}:O + H_3N + H_2NC_6H_5$$

Das neu entstandene Karbonyl reagiert dann mit einem dritten Molekül Phenylhydrazin nochmals unter Hydrazonbildung. Somit entsteht aus der Gruppe



$$\begin{matrix} | \\ CHOH \\ | \\ CO \\ | \end{matrix} + 3H_2N.NHC_6H_5$$

Oxyaldehyd bezw. Oxyketon, die Gruppe

$$\begin{matrix} | \\ C:N.NHC_6H_5 \\ | \\ C:N.NHC_6H_5 \\ | \end{matrix}$$ Osazon,

die kennzeichnend für die Osazone genannten Verbindungen ist. Aus Traubenzucker bildet sich Glukosazon:

$$\begin{matrix} CH_2OH \\ CO \\ HOCH \\ HCOH \\ HCOH \\ CH_2OH \\ \text{Fruchtzucker} \end{matrix} \quad \text{oder} \quad \begin{matrix} CHO \\ HCOH \\ HOCH \\ HCOH \\ HCOH \\ CH_2OH \\ \text{Traubenzucker} \end{matrix} + \begin{matrix} 3H_2N.NHC_6H_5 \\ \text{Phenylhydrazin} \end{matrix}$$

$$= \begin{matrix} CH:N.NHC_6H_5 \\ C:N.NHC_6H_5 \\ HOCH \\ HCOH \\ HCOH \\ CH_2OH \\ \text{Phenylglukosazon} \end{matrix} + NH_3 + H_2NC_6H_5 + 2H_2O$$

Die Reaktion geht besonders gut in essigsaurer Lösung vonstatten; sie erlaubt es, die leicht löslichen Monosen als in Wasser schwerer lösliche Osazone in Kristallen bestimmter Formen abzuscheiden, die aus Pyridin umkristallisiert, und deren Schmelzpunkte bestimmt werden können. Auch das spezifische Drehungsvermögen dieser Osazone in Pyridinlösung ist kennzeichnend und kann bestimmt werden. Wie aus den Formeln ersichtlich, geben

Fruchtzucker und **Traubenzucker** identische Glukosazone vom Schmelzpunkte 204—205°. Es ist daher auch möglich, durch Überführung des die Gruppe — CHOH — CHO enthaltenden Traubenzuckers in das Glukosazon, aus diesem durch rauchende Salzsäure die beiden Moleküle Phenylhydrazin wieder abzuspalten und dadurch das durch die Gruppe — CO — CHO gekennzeichnete Glukoson, hieraus aber durch Reduktion mit Zinkstaub und Essigsäure den die Gruppe — CO — CH_2OH enthaltenden Fruchtzucker zu erhalten. Das Phenylglukosazon zeigt sich unter dem Mikroskope in Form büschelförmig vereinigter, stark gelber Nadeln.

Zur Ausführung der Osazonprobe werden fünf Tropfen[1]) reines und möglichst farbloses Phenylhydrazin (Base) mit 20 Tropfen Eisessig und 50 bis 60 Tropfen (etwa 3 ccm) des zu prüfenden Harns im Reagierglase über einer kleinen Flamme erhitzt, und vom Augenblicke des ersten Aufkochens ab eine Minute lang im Sieden erhalten. Darauf setzt man sofort 22 Tropfen offizinelle Natronlauge zu, kocht noch einmal auf und stellt zwei Stunden lang — bei Spuren über Nacht — beiseite. Durch den Zusatz von Natron soll ein Teil der Essigsäure abgesättigt, und das Lösungsvermögen der Flüssigkeit für den Niederschlag verringert werden. Die Flüssigkeit muß danach noch sauer reagieren. Bei Gegenwart von auch nur 0,01 % Traubenzucker bildet sich der Niederschlag des Glukosazons, den man nach dem Abheben der überstehenden Flüssigkeit mit dem letzten Tropfen auf einen Objektträger bringt und unter dem Mikroskope betrachtet. Traubenzucker und Fruchtzucker werden durch diese Probe in gleicher Weise angezeigt. Milchzucker bildet zwar

1) Alle Tropfen am besten aus Tropfgläsern mit kreisförmiger Abtropffläche von 5 mm Durchmesser.

auch ein Osazon, das sich aber unter den hier gegebenen Bedingungen nicht abscheidet, weil es zu leicht löslich ist. Das Osazon der Harnpentose scheidet sich, wenn sie zugegen ist, bei dieser Probe gleichfalls ab, ist aber leichter löslich als Phenylglukosazon. Verdünnt man daher einen Raumteil Harn mit zehn Raumteilen Wasser, und stellt mit der Verdünnung die Osazonprobe an, so kann man sicher sein, daß Pentosazon aus dieser Verdünnung sich nicht mehr abscheidet.

Will man **Pentose** aus dem Harne als Pentosazon fällen und identifizieren, so verwendet man dazu 200—500 ccm Harn. Auf je 100 ccm Harn werden 2,5 g in überschüssigem Eisessig gelöstes Phenylhydrazin zugesetzt, die Flüssigkeit bis zum beginnenden Sieden erhitzt und dann noch 1 bis 1½ Stunden im siedenden Wasserbade stehen gelassen. Ist Pentose vorhanden gewesen, so scheidet sich beim Erkalten deren Osazon in gelben Nadeln aus. Die Abscheidung wird in möglichst wenig heißem absolutem Alkohol gelöst, die Lösung in heißes Wasser gegossen, der Alkoholgehalt weggekocht, und dann erkalten gelassen. Dies Umkristallisieren wird so oft wiederholt, bis zwei nacheinander erhaltene Abscheidungen nach dem Trocknen denselben Schmelzpunkt zeigen. Der Schmelzpunkt des Pentosazons liegt bei 150—160°, der des Laktosazons bei 200°. Gilt es, Pentosazon aus einem Gemenge zu gewinnen, so behandelt man es wiederholt mit Wasser von 60° C, wobei hauptsächlich Pentosazon gelöst, und durch Wiederholung des Verfahrens mit den beim Erkalten der wässerigen Lösungen erhaltenen Abscheidungen auch gereinigt werden kann.

Einfacher weist man die Pentose mit Hilfe der Orzinprobe nach. Sie beruht darauf, daß Pentoseharn bei längerem Erhitzen mit Salzsäure und etwas Orzin eine rötlichblaue Färbung gibt und dann einen blauen

Farbstoff abscheidet. Schüttelt man das Gemisch mit Amylalkohol, so färbt dieser sich rötlich, nach einiger Zeit smaragdgrün. Die spektroskopische Untersuchung der Lösung zeigt einen Absorptionsstreifen zwischen C und D. Bial hat den Verlauf der Reaktion durch Zusatz eines Kontaktstoffes — Eisenchlorid — abgekürzt. Das Reagens wird nach Eschbaum am besten jedesmal frisch bereitet, indem man in ein 10 ccm fassendes Stöpselglas etwa 0,03 g Orzin gibt, das Glas mit Salzsäure von 1,19 spezifischem Gewichte auffüllt, und nach erfolgter Lösung des Orzins aus einem Tropfglase mit 5 mm Abtropffläche einen Tropfen eines mit Wasser auf das Vierfache seines Gewichts verdünnten Liqu. ferri sesquichlorati hinzufügt. Von dieser Flüssigkeit bringt man etwa 5 ccm in ein Reagierglas, fügt höchstens 2 ccm Harn zu, verschließt die Mündung des Glases mit einem Wattestopfen, erhitzt bis fast zum Sieden und stellt beiseite. Bei Anwesenheit von Pentosen entsteht allmählich eine smaragdgrüne Färbung, die bald dunkelgrün wird. Es darf nicht mehr Eisenchlorid zugesetzt werden als angegeben, weil sonst die gepaarten Glukuronsäuren unter ähnlichen Farbenerscheinungen zersetzt werden könnten; aus demselben Grunde darf man auch nicht zu stark erhitzen.

Fruchtzucker weist man am einfachsten nach, indem man nach Seliwanoff einige Kristalle Resorzin in etwa 5 ccm Salzsäure (1,19 spezisches Gewicht) löst, die Lösung erhitzt, zu der heißen Flüssigkeit etwa 1 ccm Harn fügt, umschwenkt und noch einen Augenblick erhitzt. Bei Gegenwart von Fruchtzucker oder solchen Zuckerarten, die Fruchtzucker abspalten (Rohrzucker, Raffinose), färbt sich die Flüssigkeit rot. Die Erscheinung wird als Ketosenreaktion gedeutet; die Aldosen, Dextrose, Galaktose, Maltose, Milchzucker, Mannose und die Aldopentosen geben sie nicht.

Die Reduktionsproben beruhen darauf, daß die Karbonylgruppen der Zuckerarten diese leicht oxydierbar machen; es entstehen Karbonsäuren, also sauerstoffreichere Verbindungen. Der dazu erforderliche Sauerstoff wird — besonders leicht in alkalischer Lösung — gewissen Metallverbindungen entzogen, die dabei in die Augen fallende Veränderungen erleiden. Geeignet sind Kupfer-, Wismut- und Quecksilber-Verbindungen. Da diese auch sonst leicht reduziert oder in ähnlicher Weise verändert werden können, hat ihre Anwendung beim Zuckernachweise im Harne unter bestimmten Verhältnissen und Vorsichtsmaßregeln zu geschehen, und die Ergebnisse der betreffenden Prüfungen müssen sorgfältig beobachtet und beurteilt werden. Bei allen Reduktionsproben muß der Harn von Eiweiß befreit werden, falls solches vorhanden ist. Das geschieht nach den Angaben auf S. 73.

a) Die Kupferprobe. Etwa 15 Tropfen Harn werden mit 5 ccm Wasser verdünnt und mit 10 Tropfen offizineller Natronlauge versetzt. Zu dem Gemische fügt man tropfenweise Kupfersulfatlösung (1 T. krist. Kupfersulfat, 49 T. Wasser) bis der anfangs entstehende und sich wieder auflösende Niederschlag beim Umschütteln nur noch langsam gelöst wird. Je nach der Beschaffenheit des Harnes werden 5—15 Tropfen oder mehr der Kupferlösung erforderlich sein. Die so erhaltene klare oder schwach getrübte Flüssigkeit erhitzt man im Reagierglase langsam zum Sieden und stellt dann beiseite. Entsteht dabei eine schwarze oder schwärzliche Abscheidung von Kupferoxyd, so hatte man zu viel Kupferlösung zugesetzt, und man muß die Probe mit weniger Kupfersulfat wiederholen. Sind die Verhältnisse richtig getroffen, so entsteht bei Anwesenheit von Harnzucker sogleich oder innerhalb einer Viertelstunde eine gelbe bis rote Abscheidung (gelbes

Kuprohydroxyd, rotes Kuprooxyd). Die Probe ist bei möglichster Sättigung der alkalischen Lösung mit Kupferhydroxyd am empfindlichsten. Zuckerreiche Harne erfordern mehr Kupferlösung. (Trommersche Probe.)

Barfoed gibt an, daß die nach ihm benannte Lösung (0,5 g normales kristallisiertes Kupferazetat, 100 ccm Wasser, 1 ccm Essigsäure) bei kurzem Kochen mit Traubenzucker und Hinstellen alsbald Kupferoxydul abscheidet, und daß Milchzucker sowie Dextrin diese Reaktion nicht geben.

b) Die Wismutprobe. Etwa 3 ccm Harn werden mit 3 ccm Natriumkarbonatlösung (1 + 4) versetzt, filtriert, das klare Filtrat mit etwa 0,05 g Bismutum subnitricum zum Sieden erhitzt und genau 2 Minuten lang im Kochen erhalten. Bei Gegenwart von Zucker schwärzt sich das Wismutsalz oder wird deutlich grau. Eine geringe Gelbfärbung ist nicht zu beachten. Spuren Zucker bewirken zuweilen eine Ablagerung der reduzierten schwarzen Wismutverbindung über dem hellen Subnitrat; man beobachtet dies nach etwa 20 Minuten (Böttgers Probe).

Die Probe kann durch Anwendung von Nylanders Wismutlösung verschärft werden. Zur Herstellung dieser Flüssigkeit werden 2 g Bismutum subnitricum, 4 g Tartarus natronatus und 11 g Natriumhydroxyd in 90 g Wasser warm gelöst und nach dem Erkalten filtriert. Die Lösung ist haltbar. Bei Anstellung eines Versuches kocht man 10 ccm Harn mit 1 ccm der Wismutlösung 2—5 Minuten lang. Gegenwart von Zucker gibt sich durch Entstehung eines schwarzen Niederschlages zu erkennen. Bei Gegenwart reichlicher Mengen Ammoniak oder von Saccharin werden die Ergebnisse dieser Probe beeinträchtigt. Zystinhaltige Harne können die Probe

geben, ohne Zucker zu enthalten; auch nach dem Gebrauche von Benzosol, Sulfonal, Trional, Antipyrin, Kairin, Rhabarber, Senna, viel Chinin, Natriumbenzoat, Eukalyptustinktur, Terpentinöl ist Reduktion der Wismutlösung beobachtet worden. Nach dem Genusse von Spargeln, Radieschen und dergleichen kann der Harn einen schwefelhaltigen Stoff enthalten, der die Reduktionsproben scheinbar positiv ausfallen läßt, während tatsächlich Metallsulfide gefällt werden, und Zucker bei der Gärprobe nicht nachweisbar ist. Im allgemeinen fallen die Reduktionsproben in alkalischer Lösung positiv aus bei Gegenwart von Traubenzucker, Fruchtzucker, Pentosen, Milchzucker und gepaarten Glukuronsäuren. Die letzteren treten gewöhnlich praktisch nicht in Reaktion, weil ihre Menge bei den vorgeschriebenen Verdünnungen zu gering ist.

Anmerkung. Zur Einübung der Zuckerproben dienen Lösungen von reinem Trauben- bezw. Milchzucker oder von Honig (Dextrose und Lävulose) in normalem Harne (0,5—5 %). Pentoselösungen erhält man aus Kirschgummi, weniger gut aus arabischem Gummi, das in 20 Teilen zweiprozentiger Schwefelsäure oder Salzsäure (8 Teile offizineller Salzsäure, 92 Teile Wasser) gelöst wird, indem man diese Lösung auf 100° erwärmt, dann eine Viertelstunde lang im lebhaft siedenden Wasser eines Wasserbades weiter erhitzt und nach dem Erkalten die Säure neutralisiert, bei der schwefelsauren Lösung am besten mit Baryumkarbonat.

Zur quantitativen Bestimmung des Harnzuckers auf chemischem Wege benutzt man gewöhnlich die Bestimmung des Reduktionswertes gegenüber alkalischer Kupferlösung, der sogenannten Fehlingschen Lösung. Unter bestimmten Versuchsbedingungen reduziert ein Molekül Traubenzucker sehr annähernd 5 Moleküle Kuprioxyd zu Kuprooxyd.. Man benützt nun eine Kupferlösung von solcher Stärke, daß 10 ccm durch 0,05 g Traubenzucker reduziert werden. Da die fertig gemischte Lösung bei längerer Aufbewahrung verdirbt, hält

man ihre Bestandteile in zwei verschiedenen Lösungen, die für sich haltbar sind, vorrätig.

1. 34,639 g reines Kuprisulfat in unverwitterten Kristallen werden in Wasser gelöst, und die Lösung bei Zimmertemperatur im 0,5 l Meßkolben mit Wasser bis zur Marke aufgefüllt.

2. 173 g Kaliumnatriumtartrat werden in 260 g Wasser gelöst und die Lösung in einen 0,5 l Meßkolben gebracht. Dann werden 34 g Ätznatron in 60 g Wasser gelöst, zum Inhalte des Meßkolbens gefügt und das Ganze nach dem Erkalten bei Zimmertemperatur mit Wasser bis zur Marke aufgefüllt.

Zum Gebrauche werden gleiche Raumteile dieser beiden Lösungen genau abgemessen und gemischt. Die fertige Lösung darf, mit 3 Raumteilen Wasser verdünnt, beim Kochen kein Oxydul abscheiden.

Den zu untersuchenden Harn verdünnt man nach dem Ergebnisse der polarimetrischen Untersuchung oder einer vorläufigen Titrierung so, daß er etwa 0,5 % Zucker enthält; wäre dieser Gehalt genau getroffen, so würden 10 ccm Fehlingsche Lösung durch 10 ccm Harn reduziert werden. Das Verhältnis, in dem der Harn verdünnt worden ist, muß genau bekannt sein. Den verdünnten Harn füllt man — wie vorher die Fehlingsche Lösung — in eine Bürette, deren Teilung 0,1 ccm angibt. Man mißt dann in einen Kolben 10 ccm Fehlingsche Lösung genau ab, fügt 40 ccm Wasser zu, erhitzt zum Sieden und läßt nun die Harnlösung zufließen. Alsbald scheidet sich rotes Kupferoxydul oder gelbes Kuprohydrat aus. Bei weiterem Zusatze entfärbt sich die anfangs blaue Kupferlösung immer mehr, und man sucht nun den Punkt zu ermitteln, bei dem die blaue Farbe eben verschwunden, d. h. alle Kupriverbindung reduziert, aber noch kein Zucker im Überschusse vorhanden ist. Zu dem Zwecke be-

dient man sich des Ferrozyankaliums als Indikator. Dieses Salz wird in 18 Teilen Wasser und 1 Teil Essigsäure gelöst und mit der Lösung Filtrierpapier angefeuchtet, das man auf eine Glasscheibe gelegt hat. Darüber legt man ein vierfach zusammengefaltetes Stück Filtrierpapier, das bestimmt ist, jede Spur der leicht durch ein Filter gehenden Teilchen Kuproverbindungen, die in der Flüssigkeit schweben, zurückzuhalten. Ist nun die Titrierung hinreichend vorgeschritten, so entnimmt man der Versuchsflüssigkeit einen Tropfen mit dem Glasstabe und bringt ihn unter leichtem Andrücken auf das obere Filtrierpapier. Die Flüssigkeit durchdringt dies, und solange noch Kupfer in Lösung ist entsteht auf dem Ferrozyankaliumpapiere ein rötlicher Fleck von Kupfer-Ferrozyanid, der mit wachsendem Harnzusatze bei einem bestimmten Punkte verschwindet. Um diesen Punkt genauer zu treffen, wiederholt man den Versuch, indem man die zur Reduktion des Kupfers nach Maßgabe des ersten Versuches erforderliche Menge der Harnlösung bis auf etwa 0,5 ccm auf einmal zusetzt und nunmehr nach kleinen Zusätzen der Harnlösung die Titrierung bis zur Endreaktion — dem Ausbleiben der Ferrozyanreaktion — wiederholt. Die Ergebnisse des zweiten Versuches müssen genauer sein und sind daher maßgebend. Sollte eine Klärung der Flüssigkeit schwer zu erzielen sein, so kann man gegen Ende des Versuches einige Tropfen verdünnte Chlorzinklösung zur Reaktionsflüssigkeit fügen. In der Regel setzt sich dann der Niederschlag gut ab.

Es liege z. B. ein Harn vor, in dem polarimetrisch 2,5 % Zucker gefunden sind. Von diesem Harne werden 20 ccm auf 100 ccm verdünnt. Von der Verdünnung seien 9,7 ccm zum Reduzieren von 10 ccm Fehlingscher Lösung verbraucht. Diese 9,7 ccm enthalten also 0,05 g Zucker, und es sind

eingedenk der stattgehabten Verdünnung unserer Probe in dem untersuchten Harne also $\frac{0{,}05 \cdot 100 \cdot 5}{9{,}7}$ $= \frac{25}{9{,}7} = 2{,}6\%$ Traubenzucker.

Auf S. 72 ist bereits der Fall angedeutet, daß die Bestimmung des reduzierenden Zuckers durch Titrieren mit Fehlingscher Lösung wesentlich mehr Zucker anzeigen kann, als die Bestimmung des Drehungswinkels, wenn man diese auf Traubenzucker berechnet. Gibt der Harn außerdem noch beim Kochen mit Resorzin und Salzsäure die Seliwanoffsche Reaktion (Rotfärbung, S. 79), so kann man auf die Anwesenheit von Fruchtzucker schließen und, falls sowohl Polarisation wie Titrierung sehr genau ausgeführt sind, aus deren Ergebnissen die Mengen vorhandenen Trauben- und Fruchtzuckers berechnen. Als Beispiel sollen die Ergebnisse dienen, die bei Untersuchung eines Gemisches beider Zuckerarten, das durch Erhitzen einer nahezu 2%igen Rohrzuckerlösung mit wenig Salzsäure bis zur Gelbfärbung, also bis zur teilweisen Zerstörung des Fruchtzuckers, erhalten worden sind. Diese Lösung zeigte im 2,00 dm langen Rohre den Drehungswinkel $\alpha = -0{,}49^0$; im 1,00 dm langen Rohre würde sich also $-0{,}245^0$ ergeben haben. Die Titrierung mit Fehlingscher Lösung ergab 1,9%. S. 69 ist die Formel $[\alpha] = \frac{100\,\alpha}{l \cdot p \cdot s}$ abgeleitet. Berechnet man aus dieser den Wert des Drehungswinkels, so hat man $\alpha = \frac{[\alpha] \cdot l \cdot p \cdot s}{100}$, wobei der Index $_D$ als selbstverständlich fortgelassen werden kann, weil wir alle Versuche bei Natriumlicht angestellt haben. Die Berechnung von Traubenzucker und Fruchtzucker wird mit Hilfe folgender Überlegungen ausgeführt:

1. Bei einem Gemenge aus Traubenzucker und Fruchtzucker setzt sich die Gesamtdrehung des Gemenges ($\alpha = -0{,}245$) aus den Einzeldrehungen der Bestandteile zusammen. Bezeichnet man den Wert der Einzeldrehung des Traubenzuckers in unserem Gemenge mit α_{tr}, den entsprechenden des Fruchtzuckers mit α_{fr}, so ist $\alpha = \alpha_{tr} + \alpha_{fr}$ oder $\alpha_{tr} + \alpha_{fr} = -0{,}245$.

2. Gefunden sind insgesamt an reduzierendem Zucker $1{,}9\,\% = p$. Diese Zahl setzt sich zusammen aus Prozenten Traubenzucker (p_{tr}) und Prozenten Fruchtzucker (p_{fr}), so daß $p = p_{tr} + p_{fr}$ ist, oder $p_{fr} = p - p_{tr} = 1{,}9 - p_{tr}$. Setzen wir nun die gesuchten Prozente Traubenzucker $p_{tr} = x$, so ist $p_{fr} = 1{,}9 - x$.

3. Es ist ferner die spezifische Drehung für Traubenzucker $[\alpha]_{D\,tr} = 52{,}6$ und für Fruchtzucker $[\alpha]_{D\,fr} = -91{,}9$; im 1 dm langen Rohre $l = 1$ und das ungefähre spezifische Gewicht unserer sehr verdünnten wässrigen Lösungen $s = 1$.

Setzen wir nun die zu 1—3 ermittelten Werte in die oben gefundene Gleichung $\alpha = \frac{[\alpha] . l . p . s}{100}$ ein, und legen wir der Gesamtberechnung die in 1. festgestellte Beziehung: $-0{,}245 = \alpha_{tr} + \alpha_{fr}$ zu Grunde, so erhalten wir:

$$-0{,}245 = \frac{52{,}6 . 1 . x . 1}{100} + \frac{(-91{,}9) . 1 . (1{,}9 - x) . 1}{100} \text{ oder}$$

$$-24{,}5 = 52{,}6\,x - 91{,}9\,(1{,}9 - x)$$

$$= 52{,}6\,x - (174{,}61 - 91{,}9\,x \text{ oder})$$

$$-24{,}5 = 52{,}6\,x - 174{,}61 + 91{,}9\,x \text{ oder}$$

$$174{,}61 - 24{,}5 = 144{,}5\,x \text{ oder}$$

$$150{,}11 = 144{,}5\,x; \text{ mithin ist}$$

$$x = \frac{150{,}11}{144{,}5} = 1{,}03\,\% \text{ Traubenzucker.}$$

Nach 2 ist $p_{fr} = 1{,}9 - x = 1{,}9 - 1{,}03 = 0{,}87\,\%$ Fruchtzucker.

Da Fruchtzucker um etwa 8 % weniger reduziert, als Traubenzucker, gibt die Rechnung keine genauen Werte, doch sind die erhaltenen Zahlen für den gewöhnlichen Gebrauch vollkommen ausreichend.

Bemerkenswert ist, daß schon kleine Fehler bei Bestimmung der Größen p und α das Ergebnis der Rechnung erheblich beeinflussen.

Azetonstoffe. Bei Diabetes mellitus, aber auch bei anderen Krankheiten sowie bei Ausschluß der Kohlehydrate aus der Kost finden sich im Harne des Menschen, wahrscheinlich als Erzeugnisse eines vermehrten Eiweißzerfalles, die sogenannten Azetonstoffe vor. Die Bezeichnung umfaßt das Azeton, die Azetessigsäure und die β-Oxybuttersäure.

Das Azeton oder Dimethylketon $CH_3 . CO . CH_3$ kommt in kleiner Menge auch im normalen Harne vor. Um es nachzuweisen, versetzt man etwa 250 ccm Harn mit 3—5 Tropfen Salzsäure und destilliert etwa 30 ccm ab. a) Das Destillat färbt sich mit frisch bereiteter Lösung von Nitroprussidnatrium rubinrot wie Kreatinin; übersättigt man darauf mit Essigsäure, so schlägt die Azetonfärbung in karminrot oder purpurrot um, während die Kreatininfärbung durch gelb in grün und blau übergeht. Die Probe kann auch mit dem Harne selbst angestellt werden.

b) Wird das Destillat mit etwas Natriumkarbonat und darauf mit etwas Jodjodkaliumlösung versetzt und vorsichtig erwärmt, so entsteht ein Niederschlag der unverkennbaren gelben Jodoform-Kriställchen in Gestalt mikroskopischer sechsseitiger Täfelchen und Sternchen; gleichzeitig macht sich der bekannte Jodoformgeruch bemerkbar.

Die Azetessigsäure $CH_3 . CO . CH_2 . COOH$ zerfällt leicht und rasch beim Erhitzen ihrer Lösung, besonders bei Gegenwart von Mineralsäuren, in Azeton und Kohlendioxyd. Daher gibt gekochter Harn die Reaktionen auf Azetessigsäure nicht. Ist sie im Harne enthalten, so gibt dessen Destillat die Azetonreaktionen. Der Nachweis gelingt nur in frischem Harne, da nach längstens 24 Stunden alle Azetessigsäure verschwunden ist. Man führt den Nachweis der Azetessigsäure a) indem man 10 ccm Harn mit Eisenchloridlösung tropfenweise so lange versetzt, als noch ein Niederschlag (von Ferriphosphat usw.) entsteht. Man filtriert und fügt zum Harne noch etwas Eisenchlorid; die Gegenwart von Azetessigsäure verrät sich durch eine bordeauxrote Färbung, die langsam verblaßt. Beim Erhitzen der Flüssigkeit zum Kochen verschwindet diese Färbung (Unterschied von Rhodan- Salizyl- Phenol- Färbungen).

b) Man versetzt 5 ccm Harn tropfenweise mit Jodjodkaliumlösung bis zur orangeroten Färbung der Flüssigkeit, erwärmt, fügt, falls die Färbung verschwindet, wieder Jodjodkalium zu, bis die Farbe beim Erwärmen bestehen bleibt und kocht dann auf. Bei Gegenwart von Azetessigsäure entsteht der stechende Geruch von Jodazeton, das übrigens die Augen heftig angreift. Die Probe ist daher mit Vorsicht auszuführen. Azeton gibt sie nicht.

Anmerkung. Wie Azetessigsäure reagiert auch der käufliche Azetessigester; man kann daher zur Einübung der betreffenden Reaktionen einige Tropfen dieses Esters in normalem Harne lösen und die Lösung zum Vergleiche prüfen.

β-Oxybuttersäure, $CH_3 . CHOH . CH_2 . COOH$ gibt beim Erhitzen ihrer mit etwas Mineralsäure angesäuerten Lösung unter Wasserabspaltung leicht α-Krotonsäure $CH_3-CH=CH-COOH$, bei der Oxydation Azeton. Dreht ein mit Hefe vergorener

Harn die Ebene des polarisierten Lichtes nach links, so enthält er wahrscheinlich β-Oxybuttersäure. Man weist sie nach, indem man etwa 300 ccm Harn mit Hefe vergären läßt, das Filtrat zum Sirup verdunstet, mit dem gleichen Raumteile reiner starker Schwefelsäure vorsichtig mischt und die Mischung aus einer Retorte ohne Kühlung destilliert. Dabei entsteht α-Krotonsäure, die sich aus dem in einem Reagierrohre aufgefangenen Destillate beim Abkühlen durch eine Kältemischung in Kristallen vom Schmelzpunkte 72^0 absetzt. Erhält man auf diese Weise keine Kristalle, so schüttelt man das Destillat mit Äther, läßt die Ätherlösung verdunsten, wäscht den Verdunstungsrückstand mit etwas kaltem Wasser, und prüft ihn auf seinen Schmelzpunkt.

Im Anschlusse hieran ist noch die **Diazoreaktion** nach Ehrlich zu erwähnen, die mit dem Harne bei Typhus, schwerer Tuberkulose und anderen Krankheiten erhalten werden kann. Als Reagenzien stellt man sich einerseits eine Lösung von 0,5 g Sulfanilsäure, 5 g Salzsäure in 100 g Wasser, anderseits eine halbprozentige Natriumnitritlösung frisch dar. Zu einer Mischung aus je 5 ccm Harn und saurem Reagens wird ein Tropfen der Nitritlösung zugesetzt, und das Gemenge mit Ammoniak übersättigt. Normaler Harn wird dabei gelb oder orange, pathologischer deutlich rot, mit ausgeprägter Rotfärbung des beim Schütteln erhaltenen Schaumes, während die oberste Schicht des sich bildenden Niederschlages grünliche Färbung annimmt. Zweifellos paart sich die aus den Reagenzien gebildete Paradiazo-Benzolsulfonsäure $C_6H_4\left\langle\begin{matrix} SO_2 \\ N_2 \end{matrix}\right\rangle O$ mit Bestandteilen der Harne zu Farbstoffen; man weiß aber noch nicht sicher, mit welchen. Die Reaktion tritt auch ein nach dem Genusse von Opium, Morphin,

Heroin, Dionin, Chrysarobin, Naphthalin. Sie wird verhindert durch Gerbstoffe, Phenol, Kreosot, Guajakol, Salol.

Nicht selten wird in der Praxis die Aufgabe gestellt, **Jodide** oder **Bromide** im Harne nachzuweisen. Die Ausscheidung eingeführter Jodide erfolgt normal in den ersten 24 Stunden etwa zur Hälfte, und ist in 48 Stunden beendet. Zum Nachweise kann man a) den Harn unmittelbar im Reagierglase mit Salpetersäure, die salpetrige Säure enthält, versetzen, und dann mit etwas Chloroform ausschütteln. Ist Jod vorhanden, so wird das Chloroform violett gefärbt; zugesetzter Stärkekleister färbt sich dann an der Berührungsstelle der Chloroformschicht und der Harnmischung blau. Eine Jodfärbung der Chloroformschicht verschwindet beim Schütteln mit Natronlauge oder mit Natriumthiosulfat (Unterschied von Indigofärbung).

b) Besser ist es, je nach der vermuteten Menge Jod oder Brom 5–20 ccm Harn mit Natriumkarbonat stark alkalisch zu machen, auf dem Wasserbade einzudampfen, und vorsichtig zu veraschen. Die Asche wird mit siedendheißem Alkohol wiederholt ausgezogen, die Auszüge werden verdunstet, und die wässerige Lösung des Verdunstungsrückstandes wird in der bei der qualitativen Analyse üblichen Weise auf Jod und Brom geprüft.

Nachweis und Bestimmung des Quecksilbergehaltes im Harne sind bisweilen bei oder nach Quecksilberkuren erforderlich. Zum qualitativen Nachweise werden 500 ccm des Harnes mit 20 ccm Salzsäure von 1,19 spez. Gew. auf 60 bis 80° C erhitzt, dann 0,3—0,5 g aufgelockerte Messingwolle zugetan, und unter häufigem Umschütteln eine Viertelstunde lang in der Wärme stehen gelassen. Das Quecksilber ist jetzt auf der Messing-

wolle niedergeschlagen; sie wird vom Harne getrennt, zuerst wiederholt mit warmem Wasser, dann mit Alkohol, schließlich zweimal mit Äther abgewaschen. Dann drückt man sie in ein Röllchen fest zusammen, bringt dies in eine 0,8 cm weite und 10 cm lange einseitig zugeschmolzene Glasröhre, und zieht diese an der Mündung in eine Kapillare aus, die nicht so dünn sein darf, daß die Spur später entweichenden Wassers sie ausfüllt und als Wasserpfropfen durchspült. Nun erhitzt man die Messingwolle, am geschlossenen Ende des Rohres anfangend und nach der Kapillare fortschreitend, gelinde. Dabei bilden sich Beschläge, die man nach der Kapillare treibt, um sie dort zu vereinigen. In dem vereinigten Beschlage wird der Quecksilbergehalt nachgewiesen, indem man das Rohr durch Abschneiden am zugeschmolzenen Ende öffnet, das durch Erhitzen von seinem Quecksilbergehalte befreite Messingwollröllchen entfernt, dann in das Röhrchen, und zwar in die Nähe der Kapillare, ein Körnchen Jod bringt, dies durch Erwärmen verflüchtigt und den Joddampf dabei über den Beschlag streichen läßt, was durch behutsames Einhauchen in der betreffenden Richtung mit Hilfe eines Glasrohres leicht gelingt. Dadurch wird etwa vorhandenes Quecksilber in gelbes Jodid umgewandelt, das bei Berührung mit einem Platindraht in die rote Form übergeht. Das Quecksilberjodid ist flüchtig und kristallinisch, was mit Hilfe einer starken Lupe oder einer schwachen Mikroskopvergrößerung erkannt wird.

Zur quantitativen Bestimmung versetzt Winternitz 1 l Harn mit 100 ccm Salzsäure, filtriert nach 1—2 Tagen, und läßt die Flüssigkeit nun langsam durch 6 mm weite Glasröhren strömen, die in einer Länge von 30 cm mit Rollen aus feinem Kupferdrahtnetze gefüllt sind. Der Strom soll in aufsteigender Richtung fortschreiten, und zwar so,

daß in der Minute 50 Tropfen am Ende abfallen. Die Filtration über das Kupfer wird mit dem Abgetropften noch einmal wiederholt. Dann werden die Netzrollen mit Wasser säurefrei abgespült, mit Alkohol, darauf mit Äther gewaschen, und im Luftstrome getrocknet. Darauf werden sie in einem langsamen Strome (40 Blasen in der Minute) von trockenem Kohlendioxyd, im Verbrennungsrohre, das vorne zur Kapillare ausgezogen ist, nach der Kapillare fortschreitend, ausgeglüht, wobei jedoch zwischen der Kapillare und den Netzrollen eine kurze Schicht gekörntes Kupferoxyd zur Zerstörung der organischen Bestandteile, und eine Spirale aus Silberdrahtnetz zur Bindung etwa vorhandenen Jods im Glühen zu erhalten sind. Das Ende der Kapillare ist mit einem lockeren Pfropfen von echtem Blattgolde zu verschließen, durch den jede Spur bis dahin entweichenden Quecksilbers gebunden wird. Sobald alles Quecksilber in der Kapillare gesammelt ist, wird sie abgeschnitten, in einem Strome trockener Luft zum gleichbleibenden Gewichte getrocknet, gewogen, das Quecksilber in einem Strome trocknen Kohlendioxyds ausgeglüht, und dann wieder gewogen. Der Gewichtsunterschied ist gleich der Menge des durch Glühen verflüchtigten Quecksilbers.

V. Untersuchung der geformten Bestandteile des Harns.

Zur Untersuchung der im Harne aufgeschwemmten geformten Bestandteile sammelt man diese durch **Absetzenlassen** oder besser durch **Ausschleudern**. Das Ausschleudern ist vorzuziehen, weil der Harn eine leicht veränderliche Flüssigkeit ist, und jedes Stehenlassen die Gefahr von Zersetzungen und Verwandlungen des ursprünglichen Formbestandes in sich birgt. Zum Ausschleudern bedient man sich

einer Schleudermaschine, sogenannten Zentrifuge. Empfehlenswert ist die Abb. 9 gezeichnete Zentrifuge für Handbetrieb. Sie gestattet durch einfaches Umstecken der Handkurbel von einer Achse auf die andere die Einstellung zweier Geschwindigkeiten, nämlich 2000—3000 Umdrehungen in der Minute für Harn-, Wasser- und Sputum-Untersuchungen und bis zu 10000 Umdrehungen für Blutuntersuchungen. Die Zentrifuge wird dementsprechend mit 2 Aufsätzen geliefert, deren einer nur für Harn- usw. Untersuchungen bestimmt ist und deren anderer, kleinerer, mit 2 Glasröhren von 50 mm Länge und 0,5 mm Weite, in 100 Teile geteilt, nur für Blutuntersuchungen bei höherer Geschwindigkeit dienen soll.

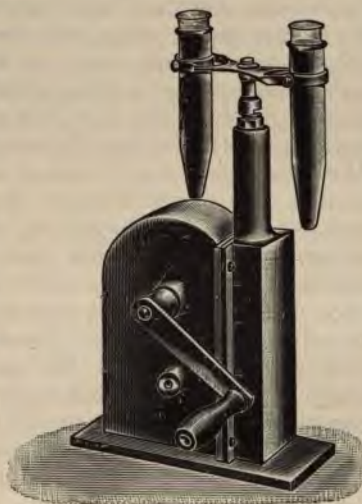


Abb. 9.
Zentrifuge.

Die Zentrifuge wird mit einer kräftigen Schraubenklemme am Tische befestigt. Beim Gebrauche füllt man zur Erhaltung des Gleichgewichtes stets beide Röhrchen in ganz gleicher Weise, dreht die Kurbel langsam an und setzt die Drehung in etwas beschleunigter Weise fort, bis der Absatz sich von der Flüssigkeit geschieden hat. Man entfernt die Flüssigkeit, überträgt den Absatz auf eine oder mehrere Objektplatten, läßt nötigenfalls noch so lange ver-

dunsten bis die Flüssigkeit mit einem Deckglase bedeckt werden kann, ohne allzusehr an dessen Seiten hervorzuquellen, und unterwirft der mikroskopischen Untersuchung bei etwa 50-, 200-, 500 facher nomineller Vergrößerung.

Die nicht organisierten Formbestandteile des Absatzes sind verschieden, je nachdem der Harn saure oder alkalische Reaktion besaß. Liegt saurer Harn vor, so kann man feinkörnige Urate, die gelb- bis braungefärbten wetzsteinartigen großen Kristalle der Harnsäure, die zarten sechsseitigen Plättchen des Zystins (selten!), kugelige Abscheidungen von Leuzin (selten) und büschlige Bündel der feinen Nadeln des Tyrosins (selten, und wie Leuzin wohl nur in abgedampftem Harne) sehen. Oft zeigen sich erst bei 500 facher Vergrößerung die kleinen, stark lichtbrechenden Oktaeder des Kalziumoxalates (in den Diagonalen kreuzförmig gestreifte Quadrate). Bei alkalischer Reaktion des Harnes können Kalziumkarbonat und Kalziumphosphat amorph abgeschieden sein. Ammoniumurat erscheint in Form braungelber, kugeliger Gebilde; Magnesium-Ammonium-Phosphat zeigt die bekannten großen Kristalle in Sargdeckelform; Kalziumphosphat bildet oft Rosetten keilförmiger Kristalle, Kalziumkarbonat kugelige Aggregate.

Von organisierten Teilchen findet man in jedem Harne die Oberhautzellen der Harnwege in geringen Mengen. Große plattenförmige Zellen, sogenanntes Pflasterepithel, stammen aus Vagina und Präputium, zylindrische Epithelzellen sind meist Elemente der männlichen Urethra und der Prostata, rundliche birnförmige aus den tieferen, vieleckige oder abgerundete aus den oberflächlichen Epithelschichten der Harnwege. Kleine rundliche oder vieleckige Epithelzellen mit großem, rundem oder

ovalem Kerne können den Nierenkanälchen entstammen. Diese Elemente sind alle am besten sichtbar nach Zusatz eines Tropfens Jod-Jodkaliumlösung, durch die sie gelb gefärbt werden.

Rote Blutkörperchen (500 fache Vergrößerung) zeigen die Form runder Scheibchen mit dickerem Rande. Bisweilen sind sie in der Austrocknung begriffen und zeigen dann zackige, sogenannte Stechapfelform, oder sie haben ihren Inhalt an die umgebende Flüssigkeit abgegeben, und nur noch ihre Hülle schwebt wie ein Schatten als zarter Kreis von der Größe des Blutkörperchens in der Flüssigkeit. Verdünnte Essigsäure bringt die roten Blutkörperchen mehr oder minder zum Verschwinden. Der normale Durchmesser der roten Blutkörperchen des Menschen beträgt etwa 7,8 μ (1 μ = 0,001 mm). Das Vorhandensein der roten Blutkörperchen des Menschen ist stets der feinste und sicherste Nachweis des Blutes im Harne; denn die Blutkörperchen halten sich in saurem Harne meist lange unverändert, während sie von alkalischem Harne leicht gelöst werden. Bluthaltiger Harn enthält immer Spuren Eiweiß und färbt sich mit Guajaktinktur und Terpentinöl blau (S. 108). Er gibt ferner die Hellersche Blutprobe, d. h. beim Erhitzen des neutralen oder schwach sauren Harnes zum Sieden entsteht ein mißfarbiger Niederschlag; auf Zusatz von Natronlauge zu der heißen Flüssigkeit tritt zunächst Klärung ein, es entsteht die grüne Färbung des Hämatinalkalis, und dann bildet sich ein roter, im auffallenden Lichte grünlicher Niederschlag aus Phosphaten nnd Hämatin. Man sammelt ihn auf einem kleinen Filter, saugt ab, preßt zwischen Filtrierpapier, löst den Niederschlag vom Filter, trocknet ihn auf einem Uhrgläschen, und sucht nach Zusatz eines Körnchens Chlornatrium durch Erhitzen mit stärkstem Eisessig bis eben zum Aufkochen und

langsames Verdunstenlassen die Teichmannschen Häminkristalle zu erzeugen.

Weiße Blutkörperchen, Leukozyten, finden sich spärlich im Harne Gesunder. Häufig sieht man sie den Harnzylindern angelagert. Sie zeigen feine Körnung und Unebenheiten der Oberfläche, und ihre Kernfigur wird auf Zusatz verdünnter Essigsäure deutlicher. Ihre Größe schwankt von 3—15 μ. Man unterscheidet verschiedene Arten Leukozyten, die bei Untersuchung des Blutes beschrieben werden sollen.

Die Eiterkörperchen sind durch ihren körnigen, oft in fettigem Zerfalle befindlichen Inhalt und ihre vielkernige Kernfigur ausgezeichnet, die auf Zusatz von Essigsäure deutlicher wird. Ihr massenhaftes Zusammenliegen macht eine Eiterung wahrscheinlich, deren Sitz jedoch nur aus den sonstigen Formelementen erschlossen werden kann. Unter dem Einflusse von verdünnten Alkalien, besonders auch der ammoniakalen Gärung des Harns zerfallen die Eiterkörperchen rasch, gegebenenfalls schon in der Blase, und bilden durch Aufquellung und Lösung der Eiterzellenkerne einen gummiähnlichen Schleim (Nukleïnschleim), der auf Zusatz verdünnter Essigsäure sich trübt.

Harnzylinder sind zarte, walzenförmige Gebilde von verschiedener Länge, Dicke und sonstiger Erscheinung. Man unterscheidet: a) Hyaline Zylinder von gleichmäßigem, farblosem Aussehen, zart durchscheinend oder glashell durchsichtig, meist gerade, seltener gebogen. Sie können ohne Jodzusatz leicht übersehen werden. Auf Zusatz von Säuren verschwinden die hyalinen Zylinder. Vielfach zeigen sie Auflagerungen anderer Formelemente und können dann leichter wahrgenommen werden. b) Granulierte Zylinder mit fein- oder grob-

körniger Oberfläche. Die feine Körnung wird meist aus harnsauren Salzen oder feinen Eiweißkörnchen, die grobe von Blutkörperchen oder von Epithelien der Nierenkanälchen gebildet (Blutkörperchen- oder Epithel-Zylinder). c) Wachsartige Zylinder sind selten und dann meist bei chronischen Formen von Nephritis zu beobachten. Sie sind oft sehr lang und dicker als die anderen Harnzylinder, durchscheinend, mit scharfen, stark lichtbrechenden Umrissen. Gegen Säuren sind sie widerstandsfähig.

Die Gegenwart von Harnzylindern weist mit wenigen Ausnahmen auf entzündliche Vorgänge in den Nieren hin.

Den eigentlichen Harnzylindern schließen sich bandähnliche Gebilde an, die man wegen einer gewissen Ahnlichkeit mit den Zylindern Zylindroide genannt hat. Sie sind meist lang, gestreift und bisher am häufigsten bei Cholera, Scharlach und Febris recurrens beobachtet.

Spermatozoën im Harne sind leicht an dem langen Schwanze und dem ovalen, glänzenden Kopfe erkennbar.

Bakterien finden sich stets im Harne, wenn er in offenen Gefäßen aufbewahrt war, nicht selten auch Sproßpilze (Hefepilze) und andere zufällige Beimengungen. Auf Tuberkelbazillen und Gonokokken kann durch Ausfärbung mit Hilfe der bekannten Verfahren untersucht werden. Andere Bakterien können durch Anlegung von Kulturen getrennt und ihrer Art nach bestimmt werden.

VI. Harnsteine.

Je nach ihrer Entstehung bezeichnet man die Harnsteine als primäre, wenn sie sich aus dem sauren Harne, als sekundäre Steine, wenn sie sich aus ammoniakalem Harne abgeschieden haben. Primäre

Harnsteine aus Uraten sind sehr selten. Solche aus Oxalaten sind gewöhnlich blutrot, höckerig, von der Größe des Hanfsamens, unlöslich in Essigsäure. Harnsäuresteine sind grüngelb, glatt, von der Größe eines Hagelkornes und größer; sie geben die Murexidprobe. Sekundäre Steine pflegen aus Ammoniumurat und Phosphaten zu bestehen. Sie sind weiß, locker, geben die Murexidprobe, die Phosphatreaktion, und entwickeln mit Natronlauge Ammoniak.

Zur **Untersuchung eines Harnsteines** pulvert man ihn und erhitzt eine Probe des Pulvers auf Platinblech. Verbrennt er dabei unter Zurücklassung einer unbedeutenden Aschenmenge, so besteht er hauptsächlich aus organischen Stoffen. In diesem Falle wird das Pulver mit verdünnter Salzsäure (1 Salzsäure, 2 Wasser) gelinde erwärmt:

α) löst es sich darin, so besteht der Stein aus Zystin oder Xanthin.

Zur Prüfung auf **Zystin** behandelt man eine Probe des Pulvers unter Umschütteln eine Zeitlang mit Ammoniak, filtriert und läßt das Filtrat auf einem Uhrglase verdunsten. Die mikroskopische Untersuchung des Rückstandes zeigt bei Gegenwart von Zystin die bekannten sechsseitigen Tafeln, mitunter aber auch Nadeln. Zur Identifizierung weist man den Schwefelgehalt des Zystins nach, indem man einige ccm Natronlauge mit 2 Tropfen Bleiazetatlösung versetzt, und den Verdunstungsrückstand der Ammoniaklösung mit der alkalischen Bleilösung kocht. Die Gegenwart des Schwefels verrät sich durch Schwärzung der Bleilösung.

Xanthin weist man mit Hilfe der sogenannten Xanthinprobe nach. Zu dem Zwecke behandelt man eine Probe des Verdunstungsrückstandes der salzsauren Lösung des Harnsteinpulvers mit Salpetersäure, und läßt die Lösung vorsichtig auf dem

Wasserbade eben bis zur Trockne verdunsten. Dabei erhält man einen zitronengelben Rückstand, der beim Betupfen mit Natronlauge rot wird. Fügt man einige Tropfen Wasser zu und erwärmt, so entsteht eine gelbe Lösung, die nach dem Verdampfen einen roten Rückstand hinterläßt.

β) Löste sich das Pulver nicht vollständig in verdünnter Salzsäure, so filtriert man, und wäscht den Rückstand aus. In diesem Falle liegt ein Stein aus Uraten vor; der Rückstand besteht aus Harnsäure, das Filtrat kann Chlorammonium enthalten. Die Gegenwart der Harnsäure wird durch die Murexidprobe bestätigt. Um diese auszuführen übergießt man ein kleines Pröbchen des ungelösten Rückstandes mit einigen Tropfen Salpetersäure, und läßt vorsichtig auf dem Wasserbade bis eben zur Trockne verdunsten. Dabei erhält man einen gelben bis roten Rückstand. Man läßt vollständig erkalten, und befeuchtet mit sehr wenig Ammoniak, oder man bläst die Dämpfe starker Ammoniakflüssigkeit auf den Rückstand. Dabei entsteht die purpurrote Murexidfärbung, die auf Zusatz von etwas Natron in blau übergeht. Die Blaufärbung verschwindet beim Erwärmen. Fügt man zu dem noch heißen gelben bis roten Rückstande oder zu dem blauen Gemenge einige Tropfen Wasser, so entsteht eine fast farblose Lösung, die beim Verdunsten keinen deutlich gefärbten Rückstand mehr gibt.

Verbrennt der Harnstein unter Zurücklassung einer erheblichen Aschenmenge, so enthält er wesentlich anorganische Bestandteile. Auch in diesem Falle wird das Harnsteinpulver mit verdünnter Salzsäure gelinde erwärmt. Tritt dabei Aufbrausen ein, so sind **Karbonate** zugegen. Ist der Stein in verdünnter Salzsäure vollständig löslich, so enthält er keine Harnsäure; bleibt ein in Salzsäure unlöslicher Rückstand, so ist zu versuchen, in diesem die Harn-

säure mit Hilfe der Murexidreaktion nachzuweisen. Sonst kann der Rückstand aus Epithelzellen, Eiweißstoffen usw. bestehen; darüber gibt die mikroskopische Prüfung Aufschluß. Von der filtrierten salzsauren Lösung wird ein kleiner Teil auf Ammoniak untersucht. Die Hauptmenge verdünnt man mit Wasser, setzt Ammoniak bis zur schwach alkalischen Reaktion zu, und säuert in der Kälte mit verdünnter Essigsäure an. Erhält man dabei eine Abscheidung gelblichweißer Flocken aus klarer Flüssigkeit, so besteht die Abscheidung aus Ferriphosphat, und die abfiltrierten und gewaschenen Flocken geben, in Salzsäure gelöst, mit Ferrozyankalium einen Niederschlag von Berlinerblau. Ist dagegen die mit Essigsäure angesäuerte Lösung des Harnsteins trübe und setzt sie allmählich einen weißlichen Niederschlag ab, so enthält dieser Kalziumoxalat. Man filtriert ab, wäscht aus, trocknet, und glüht den Niederschlag auf Platinblech. Dabei entsteht ein Gemenge von Kalziumoxyd und Kalziumkarbonat, das, nach dem Erkalten mit Wasser befeuchtet, alkalisch reagiert, und in Salzsäure — besonders nach schwachem Glühen unter Aufbrausen — löslich ist. Die vom Ammoniak-Essigsäureniederschlage abfiltrierte Lösung kann Kalzium, Magnesium, und Phosphat enthalten. Eine Probe derselben versetzt man mit Uranylazetatlösung, die vorhandenes **Phosphat** als Uranylphosphat fällt. Die Hauptmenge der Lösung versetzt man mit Ammoniumoxalat, wodurch vorhandenes **Kalzium** als Kalziumoxalat gefällt wird; man erwärmt die saure Flüssigkeit, läßt sie einige Zeit stehen, bis der Niederschlag sich abgesetzt hat, filtriert, setzt einen Tropfen Phosphorsäure zu, und macht mit Ammoniak alkalisch. Bei Gegenwart von **Magnesium** scheidet sich Ammonium-Magnesiumphosphat in den bekannten kennzeichnenden Kristallen ab.

VII. Untersuchung der Darmentleerungen.

Allgemeines. Durch die Mundöffnung wird Nahrung in die Verdauungsorgane des Menschen eingeführt, in diesen zerlegt und zum Teile von den Körpersäften aufgenommen; der nicht aufgenommene Anteil wird vom Darme durch den After entleert. Die Darmentleerungen, der Kot, bestehen jedoch beim gesunden Menschen nur zum geringeren Teile aus unbrauchbaren Nahrungsresten, zum größeren Teile aus den in die Verdauungswege geleiteten Abscheidungen der mit ihnen in Verbindung stehenden Organe und der Verdauungswege selbst. Die Entleerung erfolgt individuell verschieden, normal in 24 Stunden meist einmal und zwar in den ersten Stunden nach dem Frühstücke. Das Gesamtgewicht der einzelnen Entleerung beträgt zwischen 100 und 300 g (bei Fleischnahrung weniger, bei Pflanzennahrung mehr), sie ist dickbreiig oder weichgeformt, besitzt den bekannten eigentümlichen Geruch und erscheint heller oder dunkler braun. Die Menge des Trockenrückstandes beträgt 16—28%; davon sind 10—14% unverbrennlich (Asche), 2—4% Phosphorsäure als Phosphate, 14—26% sind in Äther löslich (8—12% verseifbare Fette), 0—2% fettsaure Erden, 4—8% geronnenes Eiweiß, 2—6% Kohlehydrate. Der normale Kot enthält reichlich Darmbakterien, Trümmer von Tripelphosphaten, aber keinen auffälligen Gehalt an ausgebildeten Kristallen, auch von Cholesterin oder Oxalaten. Mikroskopisch sieht man Schleimfäden in mäßiger Menge und bei vegetabilischer Kost Zellulose.

Bei Kranken ist der Kot anders beschaffen, sobald an der Kotbildung beteiligte Organe ihre Tätigkeit eingestellt oder verändert haben. Das kann in sehr verschiedener Weise geschehen, denn die Verdauungsröhre des Menschen vom Munde bis zum After ist etwa 12 m lang und die Mundhöhle mit

ihren Zähnen, der Magen, Zwölffingerdarm, Dünndarm, Dickdarm und Mastdarm mit den von ihnen aufgenommenen Absonderungen der verschiedenen Drüsen und der Galle arbeiten in sehr verschiedener Weise. Jede Störung dieser Arbeit hat ihren bestimmten Einfluß, der sich in einer Veränderung der Zusammensetzung des Kotes geltend macht und daher durch dessen Untersuchung nachgewiesen werden kann. Diese Aufgabe soll die planmäßige Kotanalyse erfüllen.

Zur Probenahme eignen sich weithalsige Einmachegläser mit Gummidichtung und Hebelverschluß, die tariert sind, so dass man ohne weiteres das Gewicht der eingelieferten Darmentleerung feststellen kann. Man unterwirft die Probe zunächst einer genauen Besichtigung auf ihre Beschaffenheit, mischt gut, stellt dann die qualitativen Prüfungen, und mit tadellosen Durchschnittsproben die quantitativen Bestimmungen an. In normalem Kote dürfen unveränderte Reste der Nahrung nicht zu erblicken sein. Er soll auch Stärke, Zucker, Albumine, Propeptone und Peptone nicht enthalten. Urobilin ist darin vorhanden, dagegen sollen unveränderte Gallenfarbstoffe (Biliverdin usw.) fehlen. Die Reaktion des natürlichen geformten Kots ist an der Außenseite, an den Darmwandungen, gewöhnlich schwach alkalisch, im Innern der Klumpen schwach sauer gegen Lackmuspapier; sie hat im übrigen wenig Bedeutung. Fettstühle erkennt man an den Fettinseln, die auf Zusatz von 1 %iger Überosmiumsäurelösung deutlich hervortreten; bisweilen sieht man hirsekorngroße weiße Drusen von Fettsäurenadeln.

Eine etwa walnußgroße Probe des gut durchmischten Kots wird in einer Porzellan-Reibschale anfangs mit wenig, dann mit mehr Wasser ganz fein angerieben, die erhaltene Flüssigkeit in eine flache Kristallisierschale gegossen und so über schwarzem Papier

sorgfältig zuerst makroskopisch, dann unter Anwendung schwacher Vergrößerungen durchmustert. Dabei sieht man Reste von Bindegewebe in Gestalt weißgelber Fäden, Reste von Muskelgewebe als kleine braune Stäbchen, und Schleim. Eine weitere Probe der Fäzes wird auf einem kleinen feinen Pulversiebe unter dem Strahle der Wasserleitung abgespült, was einige Zeit in Anspruch nehmen kann. Boas verwendet hierzu ein sehr zweckmäßiges geschlossenes Stuhlsieb, das man fast ohne Beaufsichtigung arbeiten lassen kann. Den Rückstand auf dem Siebe untersucht man auf Parasiten, auf Steingebilde und auf Schleim. Der Befund wird durch besondere mikroskopische Untersuchung noch bestätigt und ergänzt. So müssen weißgelbe Fäden stets mikroskopiert werden, denn es könnte sich z. B. um Reste aus dem Fruchtfleische genossener Apfelsinen handeln; die Steinzellgruppen der Birnen sind häufig als Gallensteine angesprochen worden usw.

Die Untersuchung auf **Parasiten** wird vom Chemiker kaum verlangt werden; sie ist Sache des Arztes oder des Zoologen, dem erforderlichenfalls das hier gewonnene Material vorgelegt werden kann.

Steingebilde: a) Gallensteine. Nach ihren Hauptbestandteilen unterscheidet man Gallensteine aus Pigmentkalk, solche aus Cholesterin und die beim Menschen sehr seltenen Steine aus Kalzium-Karbonat und -Phosphat. Die Pigmentsteine sind beim Menschen meist klein und bestehen vorwiegend aus Bilirubinkalk mit wenig Biliverdin. Sie sind schwerer als Wasser und enthalten regelmäßig Eisen und Kupfer, bisweilen Mangan und Zink. Die Cholesterinsteine sind meist zu mehreren vorhanden und erscheinen dann durch gegenseitigen Druck vielfach mit ebenen Flächen, sind fettig anzufühlen, oft leichter als Wasser und zeigen auf dem Querschnitte kristallinisch konzentrische Schichten. Größe, Form,

Farbe und Beschaffenheit wechseln sehr. Sie enthalten 64—98 % Cholesterin und daneben bisweilen noch Pigmentkalk. Das Cholesterin löst sich leicht in siedendem Alkohol und kristallisiert beim Erkalten aus. Läßt man ein Gemenge von 5 Teilen Schwefelsäure und 1 Teil Wasser auf Cholesterinkristalle einwirken, so färben sie sich von den Rändern aus lebhaft karminrot, dann violett; bei Zusatz von etwas Jodlösung geht die Färbung in blaugrün und blau über. Dies Verhalten eignet sich besonders zur mikrochemischen Erkennung des Cholesterins. Zum makroskopischen Nachweise des Cholesterins löst man es in etwa 2 ccm Chloroform, setzt 10 Tropfen Essigsäureanhydrid und dann tropfenweise reine Schwefelsäure zu. Es entsteht eine schön rote Färbung, die in blau und, wenn weder zu viel Cholesterin noch zu viel Schwefelsäure vorhanden war, zuletzt in ein dauerndes schönes Grün übergeht (Liebermann).

Zur Trennung des Bilirubins von Cholesterin und den Gallensäuren kocht man die fein gepulverten Gallensteine zuerst mit Äther und dann mit Wasser aus. Aus dem ungelösten Rückstande werden die anorganischen Basen mit 10prozentiger Essigsäure entfernt, darauf mit kaltem Alkohol ein grüner Farbstoff, mit siedendem Eisessig Choleprasin entfernt, mit Wasser gewaschen und getrocknet. Der trockene Rückstand gibt bei fortgesetztem Ausziehen mit siedendem Chloroform das Bilirubin ab, das sich aus der Lösung in Krusten abscheidet, die aus siedendem Dimethylanilin umkristallisiert werden können. Zur Erkennung des Bilirubins benützt man seine alkalische Lösung. Wird diese im Reagierglase über Salpetersäure, die etwas salpetrige Säure enthält, geschichtet, so entstehen an der Berührungsstelle farbige Ringe, die von unten nach oben rotgelb, rot, violett, blau, grün erscheinen (Gmelins Reaktion). Das Farbenspiel tritt bei Gegenwart stören-

der Beimengungen bisweilen etwas anders auf, kennzeichnend bleiben jedoch die grüne und die rotviolette Zone. Die Reaktion muß mit alkoholfreien Flüssigkeiten vorgenommen werden.

b) Darmsteine bilden sich beim Menschen selten und dann gewöhnlich als Hülle um einen Fremdkörper (Obstkerne, Knochensplitter). Sie sind rundlich, gelb bis graubraun, geschichtet und bestehen hauptsächlich aus Ammonium-Magnesiumphosphat und Kalziumphosphat nebst etwas Fett und Farbstoff.

c) Sehr selten sind die meist Kalziumkarbonat enthaltenden Pankreassteine.

Schleim ist in geringen Mengen auch im Kote Gesunder enthalten; reichliche Mengen zeigen sich bei Katarrh der Schleimhäute. Bringt man Schleim in eine etwa 2% Essigsäure enthaltende dünne Methylenblaulösung, so färbt er sich stark blau und nimmt ein geronnenes, samtartiges Aussehen an; die Färbung läßt sich mit Wasser nicht auswaschen. Bei träger Entleerung sieht der zu Klumpen geballte Kot oft wie lackiert durch einen Schleimüberzug aus; solcher Schleim stammt aus den unteren Darmabschnitten. Bei Dickdarmkatarrh findet man Schleimklumpen, die bisweilen noch die Form der Dickdarmwindungen besitzen; bei Dünndarmkatarrh ist der Schleim gleichmäßig im Kote verteilt.

Die **mikroskopische Untersuchung** muß, wie die chemische, darauf gerichtet sein, organische Störungen sowie Unregelmäßigkeiten in der Verdauung der drei großen Nährstoffgruppen: Eiweißstoffe, Fette, Kohlehydrate zu erkennen, und wenn möglich ihre Ursachen nachzuweisen. Zu diesem Zwecke dienen drei verschiedene Präparate des Kotes. Zunächst entnimmt man eine kleine Probe zur unmittelbaren Untersuchung ohne Zusätze. In diesem

Präparate kann man etwa vorhandene Parasiteneier und bei gestörter Verdauung Bruchstücke von Muskelfasern in größerer Menge wahrnehmen. Quergestreifte Muskelfasern werden deutlicher nach Zusatz einer einprozentigen Lösung von Überosmiumsäure; sie finden sich oft bei Pankreasdiabetes, auch wenn die chemische Untersuchung Albumine nicht nachwies. Fett färbt sich mit Überosmiumsäure dunkel, mit einer Lösung des Farbstoffes Sudan III orange bis blutrot. Ein zweites Präparat wird mit einem Tropfen Acidum aceticum dilutum verrieben. Hier zeigen sich am besten vorhandene Fettsäurekristalle. Der Nachweis von Eiterkörperchen (S. 96), die bei Darmkatarrh und eitrigen Vorgängen sich den Darmentleerungen beimengen, gelingt nicht immer. Ein drittes Präparat wird mit einer Lösung von 1 Teil Jod, 2 Teil Kaliumjodid, 50 Teilen Wasser verrieben. In diesem Präparate zeigen sich alle zarten organischen Formen sehr deutlich. Wichtig ist die Erkennung der durch das Jod blaugefärbten Stärkekörnchen, der mehr oder minder blau oder rötlichblau gefärbten Pilzsporen, der Fadenbakterien und der Hefezellen. Am deutlichsten werden die Ergebnisse der mikroskopischen Prüfung nach Ernährung mit einer geeigneten Probekost ausfallen. Will man den Kot auf seine Kristalltrümmer und Kristalle prüfen, so weicht man ihn mit wenig Wasser auf, läßt kurz absetzen, gießt ab und mikroskopiert den Absatz.

Zur **Untersuchung auf Gallenfarbstoffe** benützt man am besten eine Lösung aus 12 g Quecksilberchlorid, 4 g Natriumchlorid und 84 g Wasser. Mit dieser Lösung wird ein 2—3 ccm großer Brocken der möglichst frischen Darmentleerungen in einer Glasschale mit flachem Boden verrieben und nach Verlauf einer Stunde makroskopisch und mikroskopisch auf das Vorhandensein grüner Teilchen

untersucht. Mit dem Reagens nimmt Urobilin eine rote, Bilirubin eine grüne Färbung an.

Wichtig ist der **Nachweis von Blut** im Kote. Streifen oder größere Überzüge von deutlich erkennbarem Blute auf dem Kote stammen von Hämorrhoiden, oder sind Erkrankungen des Dickdarmes zuzuschreiben. Typhöse Darmblutungen erscheinen gewöhnlich deutlich rot. Ist das Blut mit dem Kote gemischt, so stammt es aus den oberen Abschnitten des Darmes oder aus dem Magen. Je höher die blutende Stelle im Verdauungskanale sich befindet, um so mehr ist die ursprünglich rote Blutfärbung verändert. Bei starken Magenblutungen erscheint der Kot fast schwarz. Der Nachweis von Blut im Kote hat nur dann Wert, wenn die Nahrung blutfrei war. Nur nach dem Genusse blutfreier Nahrung 4—5 Tage lang vor Untersuchung des Kotes lassen sich kleinere Blutungen, die bei der Besichtigung nicht wahrgenommen werden können, chemisch nachweisen, und ein derartiger Nachweis gibt die Gewißheit, daß krankhafte Prozesse vorliegen zu einer Zeit, wo sie nicht oder nicht mehr vermutet werden. Bei der Untersuchung von Kot, dem schon äußerlich Blut anhaftet, benützt man zur Ermittelung solcher krankhafter Prozesse nur die inneren Teile der Kotballen. Dünnere, saure Stühle werden durch Verreiben mit Natriumkarbonat alkalisch gemacht. Etwa 4 g der zu untersuchenden Durchschnittsprobe — bei dünneren Stühlen entsprechend mehr — werden im Porzellanmörser mit 30 ccm eines Gemisches gleicher Gewichtsteile Alkohol und Äther fein zerrieben, auf ein glattes Filter gebracht, der Inhalt des Filters einmal mit der Alkoholäthermischung, dann unter Aufrühren mit Äther ausgewaschen bis das Ablaufende farblos erscheint. Der Inhalt des Filters wird vom Filter gehoben, mit 4 ccm Eisessig verrieben, dann wieder auf das Filter gebracht

und mit 4 ccm Eisessig nachgespült. Eine Probe des Filtrats verdünnt man mit dem doppelten Raumteile Äther und setzt der Mischung ihre halbe Raummenge Wasser zu. Dadurch tritt Trennung in zwei Schichten ein. Im Scheidetrichter läßt man die wässerige Schicht abfließen, wäscht die ätherische Lösung durch Schütteln mit etwas Wasser und läßt dieses wieder abfließen. Die ätherische Lösung versetzt man nun mit 10 Tropfen einer frisch bereiteten Lösung von 1 Teile frisch zerschlagenem Guajakharz und 5 Teilen 90prozentigem Alkohol, dann mit 20 Tropfen ozonisiertem (altem) Terpentinöl, von dessen Wirksamkeit man sich durch einen Gegenversuch mit bluthaltigem Stoffe überzeugt hat. Eine Mischung der Guajaktinktur mit dem Terpentinöle darf für sich nicht blau werden. Bei Anwesenheit von Blutfarbstoff entsteht innerhalb einiger Minuten Blaufärbung, die nach violett oder nach grün schattieren kann. Die Hauptmenge der Essigsäurelösung wird spektroskopisch untersucht. Ist das Absorptionsspektrum des sauren Hämatins nicht deutlich, so macht man die Lösung unter Kühlung vorsichtig mit Ammoniak alkalisch, mischt mit einigen Tropfen Hydrazinhydrat und beobachtet, ob man das Absorptionsspektrum des Hämochromogens erkennen kann.

Anmerkung. Als Vergleichsstoff bei den Prüfungen auf Blut kann man Tierblut auf gut gereinigte Glasscheiben streichen; nach vollständigem Trocknen an staubfreier Luft ist das Objekt sehr lange haltbar.

Zur **Anstellung der Gärprobe** reibt man den Kot mit seinem fünffachen Gewichte Wasser fein an, macht die Mischung mit Essigsäure schwach sauer, erhitzt einige Minuten lang zum Sieden, filtriert und stellt mit dem klaren Filtrate und gewaschener Hefe im Einhornschen Gärungssaccharometer die Gärprobe bei 37^0 wie mit Harn an. Hat sich nach

24 Stunden eine wesentliche Menge Kohlendioxyd gebildet, so enthielt der Stuhl gärungsfähigen Zucker.

Bei der planmäßigen **quantitativen Untersuchung** des Kotes werden (nach v. Oefele) in sorgfältig hergestellten Durchschnittsproben bestimmt:

1. Der Trockenrückstand durch Austrocknen von etwa 1 g Kot (genau gewogen), der in einem mit Sand beschickten Tiegel bei 100° C bis zum gleichbleibenden Gewichte getrocknet wird. Soll das hierbei entweichende Ammoniak bestimmt werden, so bringt man die Kotprobe in ein Porzellanschiffchen, das in einem durch einen Trockenschrank mit seitlichen Öffnungen gesteckten Glasrohre erhitzt wird. Durch dieses Rohr leitet man einen Strom Luft, die durch Schwefelsäure getrocknet ist, und die nach dem Passieren der Kotprobe durch ein mit 20 ccm n/10 Säure beschicktes Péligotsches Rohr streichen und dort alles etwa mitgeführte Ammoniak an die Säure abgeben muß. Die Menge des Ammoniaks erfährt man durch Zurücktitrieren der Säure.

2. Rohfett und Fettsäuren. Man trocknet etwa 40—50 g Kot bei 100° C sorgfältig aus, pulvert den Rückstand und erschöpft etwa 3—4 g Trockenrückstand (genau gewogen) vollständig mit Äther. Der Verdunstungsrückstand des Ätherauszuges ergibt nach dem Trocknen das Rohfett. Dieses wird mit Wasser gewaschen und erforderlichenfalls der Säuregehalt des Waschwassers durch Titrieren mit Barytwasser von bekanntem Gehalte ermittelt. Die dabei abgeschiedene Barytseife kann auf einem Asbestfilter gesammelt, mit einer geeigneten Säure zerlegt und die abgeschiedene Fettsäure gewogen werden.

3. Normalfette und Cholesterin. Das gewaschene Rohfett wird durch kurzes Erhitzen mit alkoholischer Kalilauge verseift, der Alkohol verdunstet, der Rückstand mit reinem Wasser be-

handelt und ein etwa ungelöst gebliebener Rückstand auf Cholesterin untersucht. Aus der wässerigen Lösung werden die Fettsäuren in bekannter Weise mit verdünnter Schwefelsäure abgeschieden, ausgewaschen, getrocknet und gewogen. Das erhaltene Gewicht wird auf Normalfette umgerechnet.

4. Pepton. Der mit Äther erschöpfte Trockenrückstand gibt an Alkohol vorhandenes Pepton ab, das im Verdunstungsrückstande der alkoholischen Lösung nach den Angaben auf S. 9 und 10 erkannt werden kann.

5. Albumosen. Der mit Äther und Alkohol ausgezogene Rückstand wird mit Essigsäure behandelt, die Lösung auf ein kleines Volumen verdunstet und die Albumosen durch Zusatz der 6—8fachen Menge absolutem Alkohol ausgefällt. Dieser Niederschlag muß unter Zusatz von etwas Alkali mit wenig warmem Wasser eine Lösung geben, die nach dem Entfärben mit Wasserstoffsuperoxyd die Biuretreaktion erhalten läßt.

6. Bisweilen soll der Gesamtfettgehalt des Kotes einschließlich der in Form von Seifen gebundenen, also unmittelbar nicht in Äther löslichen Fettsäuren bestimmt werden. In diesem Falle werden 3—4 g des gepulverten Trockenrückstandes genau abgewogen, in einem Porzellanschälchen mit Alkohol, dem ein Prozent starke Salzsäure zugesetzt ist, gut durchfeuchtet und die Mischung auf dem Wasserbade ausgetrocknet. Dabei werden alle Seifen unter Abscheidung der Fettsäuren zerlegt. Der trockene Rückstand wird gepulvert und vollständig — nötigenfalls unter Abreiben der Schalenwandungen mit Sand und etwas Filtrierpapier — in einen Ätherextraktionsapparat gebracht und dort mit Äther erschöpft. Der getrocknete Verdunstungsrückstand des Äther-

auszuges ergibt den Gesamtfettgehalt. Zieht man von diesem das in 2. erhaltene Rohfett ab, so ergibt sich die Menge der in Form von Seifen gebundenen Fettsäuren.

7. Die Bestimmung des Stickstoffgehaltes geschieht nach Kjeldahl. 1—1,5 g Kot werden in einem Bechergläschen abgewogen, dann mit kleinen Anteilen (im ganzen 20 ccm) konzentrierter Schwefelsäure vollständig in einen Kjeldahl-Kolben gespült, 0,5 g Kupfersulfat zugesetzt und die Mischung weiter behandelt wie S. 24—28 für die Stickstoffbestimmung im Harne angegeben ist.

VIII. Untersuchung des Blutes.

Allgemeines. Das Blut gilt als Lebenssaft, denn es durchströmt und ernährt alle Gewebe des Körpers. Es ist eine undurchsichtige, rote, dickliche, klebrige Flüssigkeit von salzartigem Geschmacke und eigentümlichem, bei den verschiedenen Tierarten verschiedenem Geruche. Dieser Geruch ist an sich nur schwach, tritt aber auf Zusatz von Schwefelsäure deutlicher hervor. Hierauf gründete Barruel sein inzwischen fast in Vergessenheit geratenes Verfahren zur Unterscheidung der verschiedenen Blutarten. Das Blut besteht aus einer klaren, wenig gefärbten Flüssigkeit, dem Blutplasma, die durch ihren großen Gehalt an geformten Elementen, nämlich roten und farblosen Blutkörperchen, Blutplättchen und etwas schollenartigem Detritus Färbung und zum Teile Beschaffenheit erhält. Außerhalb des Körpers gerinnt das Blut mehr oder minder rasch, indem sich ein schwer löslicher Eiweißstoff, das Fibrin, abscheidet. Erfolgt die Abscheidung in der Ruhe, so gerinnt das Blut zu einer festen Gallerte, die, von den Gefäßwänden getrennt, zunehmende Mengen einer schwach strohgelb gefärbten Flüssigkeit abscheidet, bis schließlich das

zusammengefallene Gerinnsel, der Blutkuchen, in der Flüssigkeit, dem Blutserum, schwebt. Dabei wandelt sich das im Blutplasma gelöste Fibrinogen in ein Netzgewebe von ungelösten Fibrinfäden um, das die geformten Bestandteile des Blutes einschließt. Durch Ausfällung der Kalziumsalze des Blutes mit Kaliumoxalat (0,1 %) oder durch Zusatz von etwas Natriumfluorid (bis 0,3 %) kann man die Gerinnung des Blutes verhindern. Niedere Temperatur verzögert die Gerinnung. Wird das Blut während der Gerinnung geschlagen, so scheidet sich das Fibrin in Gestalt faseriger Massen ab, und der größte Teil der Blutkörper verbleibt im Blutserum.

Das gesunde Blut der Arterien ist durch den Gehalt seiner roten Blutkörperchen an Oxyhämoglobin hellrot gefärbt. Es wird um so dunkler, je mehr es Sauerstoff verliert, also je mehr Hämoglobin sich zurückbildet. Von Sauerstoff freies Blut ist im durchfallenden Lichte dunkelrot, erscheint aber im auffallenden Lichte grün, ist also dichroïtisch. Es nimmt bereits durch Schütteln mit Luft wieder Sauerstoff auf.

Das Hämoglobin ist ein Proteïd und läßt sich in den Eiweißstoff Globin und einen eisenhaltigen Farbstoff, das Hämochromogen (gegen 4 %) spalten. Dieses wird bei Gegenwart von Sauerstoff zu Hämatin oxydiert. Die Menge des Hämoglobins im Menschenblute beträgt etwa 14 %, seine Zusammensetzung ist bei verschiedenen Tierarten etwas verschieden. Das schwach saure, verhältnismäßig leicht kristallisierende Oxyhämoglobin wird als eine Verbindung gleicher Moleküle Hämoglobin und Sauerstoff angesehen; im Leben befindet es sich fortwährend in Bildung und Rückbildung. Das sind die den tierischen Lebensprozeß des Blutes besonders kennzeichnenden Vorgänge, bei denen der Eisengehalt des Hämoglobins eine ähnliche Rolle zu spielen

scheint, wie der Eisengehalt des dem Hämoglobin nahe stehenden Chlorophylls im Pflanzenleben. Im luftverdünnten Raume, beim Durchtreten indifferenter Gase, nach Zusatz alkalischer Ferrotartratlösung wird das Oxyhämoglobin zu Hämoglobin reduziert. Bleibt arterielles Blut bei Luftabschluß stehen, so zersetzt es sich unter Bildung von etwas Methämoglobin. Dieses bildet sich ferner bei Einwirkung oxydierender Stoffe auf Oxyhämoglobin. Das Methämoglobin kristallisiert; seine braune wässerige Lösung wird durch Alkali schön rot. Auch das Methämoglobin ist ein Sauerstoffhämoglobin, enthält jedoch den Sauerstoff fester gebunden als das Oxyhämoglobin.

Die Erkennung aller dieser und noch einiger anderer, weniger wichtiger Blutfarbstoffe ist nur mit Hilfe der Absorptions-Spektralanalyse möglich; zu ihrer Bestimmung benützt man die Verfahren der quantitativen Absorptions-Spektralanalyse (Spektrophotometrie usw.) oder kolorimetrische Methoden.

Für ärztliche Zwecke wird wohl kaum der Nachweis des Blutes oder seiner Farbstoffe verlangt werden; hier sind daher nur diejenigen Veränderungen in den Eigenschaften und in der Zusammensetzung des Blutes besprochen, aus denen bestimmte Schlüsse für die ärztliche Diagnose gezogen werden können.

Die **Reaktion** des dem lebenden Körper entnommenen Blutes ist stets alkalisch. Außerhalb des Körpers nimmt die Alkalität ab, und zwar um so rascher, je größer sie ursprünglich war. Auch nach angestrengter Muskelarbeit, sowie nach anhaltendem Einnehmen von Mineralsäuren ist die Alkalität des Blutes vermindert. Man stellt die Reaktion des Blutes fest, indem man auf rotes Lackmuspapier, das mit 10prozentiger Kochsalzlösung befeuchtet ist, das Blut einwirken läßt und rasch mit der Kochsalzlösung abspült.

Das **spezifische Gewicht des Blutes** schwankt, und diese Schwankungen entsprechen bei Gesunden solchen der Hämoglobinmenge im Blute; am höchsten ist das spezifische Gewicht des Blutes bei der Geburt, am niedrigsten bei Kindern bis zum zweiten Jahre und bei Schwangeren. Bei gesunden Erwachsenen beträgt das spezifische Gewicht 1,045 bis 1,075; beim Manne im Mittel etwa 1,058, beim Weibe etwas weniger. Die Bestimmung geschieht a) da, wo eine chemische Probierwage von 0,02 mg Empfindlichkeit zur Verfügung steht, am besten mit Hilfe des Schmaltzschen Kapillar-Pyknometers. Das Gerät ist eine etwa 12 cm lange, 1,5 mm weite, an den Enden etwa 1 cm lang auf 0,6 mm verjüngte dünnwandige Glaspipette, die bei gleichbleibender Temperatur α) für sich, β) mit Blut gefüllt, γ) mit reinem Wasser gefüllt genau gewogen wird. Die Füllung wird durch Ansaugen eingeleitet und durch Senken des Röhrchens nach der Horizontale vollendet. Das spezifische Gewicht s des Blutes ergibt sich hiernach: $s = \frac{\beta - \alpha}{\gamma - \alpha}$. Dazu werden etwa 2 Tropfen = 0,1 g Blut verbraucht.

b) Steht eine hinreichend empfindliche Wage nicht zur Verfügung, so stellt man eine mit dem Blute nicht mischbare Flüssigkeit mit diesem auf das gleiche spezifische Gewicht und bestimmt letzteres nun bei der Flüssigkeit. Man verwendet dazu eine Mischung aus 40 ccm Chloroform und 50 ccm Benzol, die ein spezifisches Gewicht von 1,054 besitzt. In die Flüssigkeit wird mit einer Pipette ein großer Blutstropfen gebracht und die Flüssigkeit durch sanfte Kreisbewegungen des Gefäßes in langsame kreisende Bewegung versetzt. Bleibt der Blutstropfen dabei an der Oberfläche, so ist die Flüssigkeit spezifisch schwerer, sinkt er auf den Boden, so ist sie leichter als das Blut. Im ersten

Falle tropft man Benzol, im letzten Chloroform zu, indem man durch Neigen des Gefäßes für gute Mischung sorgt, ohne den Blutstropfen zur Teilung zu bringen. Man stellt nun durch das Zufügen des leichteren Benzols oder des schwereren Chloroforms die Flüssigkeit so ein, daß nach guter Mischung der Blutstropfen frei schwebt, ohne ausgesprochene Neigung zu steigen oder zu fallen. Dabei muß rasch gearbeitet werden, weil sonst der Blutstropfen selbst Wasser verliert und damit sein spezifisches Gewicht ändert (Hammerschlag). Die Chloroform-Benzolmischung kann filtriert und wiederholt benutzt werden.

Die **geformten Bestandteile des Blutes.** Das Blut enthält wie bereits erwähnt Blutplättchen, rote Blutkörper (Erythrozyten) und farblose Blutkörper (Leukozyten).

Die Blutplättchen sind runde oder etwas eiförmige, farblose oder schwachrosig leuchtende Scheibchen von 1,5—3,5 μ (1 μ = 0,000001 m) Durchmesser, die Nukleïn enthalten und eine Rolle bei der Gerinnung des Blutes spielen. Es sind unbeständige, zu raschem Zerfalle geneigte Gebilde, die sich meist an die Wundränder ansetzen oder zusammenkleben, so daß sie leicht übersehen werden. Man nimmt sie am besten wahr, wenn man vor der Blutentnahme einen Tropfen 10 prozentige Lösung von Natriummetaphosphat (Glührückstand des Natrium-Ammoniumphosphates, das in der Lötrohranalyse als Phosphorsalz viel gebraucht wird) auf die Haut bringt und durch den Tropfen dieser Konservierungsflüssigkeit hindurch den zur Entnahme der Blutprobe erforderlichen Einstich macht. Die Bedeutung der Blutplättchen ist noch nicht völlig aufgeklärt.

Die roten Blutköper der Menschen wie der

Säugetiere (ausgenommen Kamel, Lama und Verwandte) sind kernlose runde Scheibchen mit verdicktem Rande, die beiderseits nach der Mitte zu dünner werden. Vögel, Amphibien, Fische haben im allgemeinen kernführende ovale Blutkörper. Von den runden Blutkörpern sind die des Menschen am größten; sie haben einen Durchmesser von 6,5—9,3 μ, im Mittel 7—8 μ und eine größte Dicke von 1,9 μ. Sie sind schwerer als das Blutplasma oder als das Blutserum und sinken daher in diesen in der Ruhe zu Boden. Darauf beruht die Möglichkeit einer genauen Zählung der Blutkörper. In dem entleerten wie im defibrinierten Blute lagern sie sich bisweilen geldrollenartig aneinander. Unter dem Einflusse von Wasser quellen die Blutkörper, die Verflachung in ihrer Mitte verschwindet mit der Färbung, und als Ergebnis dieses Hämolyse genannten Vorganges sieht man von den Körpern nur noch einen zarten, farblosen Kreis, den sogenannten Blutschatten. Bei Entziehung von Wasser durch Verdunsten (am Rande des Deckglases oder einer Luftblase) oder durch chemische Einwirkungen (Natriumsulfatlösung) nehmen die Blutkörper einen gezackten Rand, Morgensternform (sogenannte Stechapfelform) oder sonstige absonderliche Formen an. Sie behalten jedoch ihre Form in einer Salzlösung, die ihrem osmotischen Drucke entspricht, ihnen, wie man sagt, isotonisch ist (0,6—1 % NaCl). Das ist bei allen Arbeiten mit Blut, besonders aber bei Zählung der Blutkörper zu berücksichtigen. Da die roten Blutkörper die Träger des Hämoglobins im Blute sind, gibt ihre Zählung auch einen Maßstab zur Schätzung des Hämoglobingehaltes.

Die Anzahl der Blutkörper wird gewöhnlich auf 1 cmm Blut bezogen. Darin finden sich beim Manne etwa 6 Millionen, beim Weibe 4—4,5 Millionen rote Blutkörper. Zur Ausführung einer Zählung

benutzt man am besten den nebenstehend abgebildeten Blutkörper-Zählapparat nach Thoma-Zeiss.

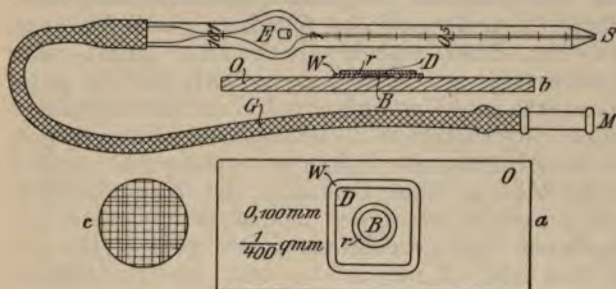


Abb. 10.
Blutkörper-Zählapparat nach Thoma-Zeiss.

Blutkörper-Zählapparat. Die Hauptbestandteile des Apparates sind:

1. Die graduierte Mischpipette ES. Ein starkwandiges unten zugespitztes Kapillarrohr S, das mit verschiedener Teilung geliefert wird, ist in seinem oberen Teile zu einem 0,5 ccm bis 1 ccm haltenden Gefässe aufgeblasen und enthält hier bei E ein als Rührer dienendes kleines Glasstückchen. Oberhalb der das Gefäß begrenzenden Schlussmarke ist das Rohr abermals erweitert; hier ist ein Gummischlauch G übergestülpt, der am andern Ende ein Mundstück M aus Bein besitzt.

2. Die Zählkammer. Auf einem starken Objektträger O ist eine kreisförmig ausgeschnittene, fein polierte, dünne Glasplatte W (in der Abbildung bei a im Aufrisse, bei b im Querschnitte dargestellt) und innerhalb des Ausschnittes ein kreisrundes Plättchen B aufgekittet. Das Plättchen B hat einen geringeren Durchmesser als der Ausschnitt von W, so dass zwischen B und der Platte W eine Rinne r entsteht. Die obere Fläche des Plättchens B, die

den Boden der Zählkammer bildet, steht überall genau um 0,10 mm tiefer als die von W und trägt eine mit Diamant eingeritzte quadratische Netzteilung (Seitenlänge jedes Quadrats gleich $^1/_{20}$ mm, also der Flächeninhalt gleich $^1/_{400}$ qmm). Zur Orientierung ist durch jedes fünfte Feld jeder Horizontal- und Vertikalreihe der auf dem Kammerboden eingeritzten Felderteilung eine Linie gezogen, die das Abzählen der Felder erleichtern soll (vergl. c in der Abb.). Zum Bedecken der Kammer kann man entweder eines der beiden dem Geräte beigegebenen plangeschliffenen Deckgläser (D) von 0,4 mm und 0,6 mm Dicke oder bei Anwendung stärkerer Systeme ein Deckglas von 0,18 mm Dicke mit aufgekittetem Glasringe benutzen.

Will man eine **Zählung der roten Körper** im menschlichen Blute vornehmen, so reinige man mit einem in Äther getauchten Wattebausche sorgfältig das Ohrläppchen oder die Fingerbeere etwa des vierten Fingers, nachdem man sie zwischen den Fingern der anderen Hand gerieben hat. Es entsteht dann eine leichte arterielle Hyperämie, so daß ein mäßig tiefer Einstich mit einer lanzettförmigen Nadel genügt, um einen großen Blutstropfen austreten zu lassen. In diesen setze man schnell die Spitze des Mischgefäßes ein und sauge das Blut bis zum Teilstriche 1 ein. Danach reinige man mit einem bereit gehaltenen Tuche oder einfach mit den Fingern die Spitze des Mischgefäßes von dem an ihr haften gebliebenen Blute und tauche sie in eine 0,8 prozentige filtrierte Kochsalzlösung, oder noch besser in Hayemsche Flüssigkeit (Natriumchlorid 0,4 g, Natriumsulfat 1,0 g, Quecksilberchlorid 0,1 g, Wasser 40 g). Auch diese saugt man sofort ein, wobei die Flüssigkeit in die kugelförmige Erweiterung des Mischgefäßes eindringt; hier wird durch leichte Drehbewegungen des Gerätes sogleich

die Mischung der Flüssigkeiten eingeleitet. Sowie diese Kugel bis zu dem Teilstriche 101 gefüllt ist, unterbricht man das Ansaugen und verschließt das Mundstück des Gummischlauches durch Aufsetzen eines Fingers. Durch sorgfältiges Umschütteln wird dann der Inhalt der kugelförmigen Erweiterung noch mehr gemischt. Da der Inhalt der Kapillarröhre nicht mit in die Mischung übergeht, so mischen sich in der Kugel 99 Raumteile Salzlösung und 1 Raumteil Blut; 100 Raumteile Mischung enthalten also 1 Raumteil Blut.

Saugt man das Blut statt bis zum Teilstriche 1 bis zu einem andern z. B. 0,5 an und verfährt im übrigen wie oben, so erhält man eine andere Verdünnung, z. B. 1 : 200, die bei Zählung der roten Blutkörper gewöhnlich angewendet wird.

Durch Einblasen von Luft in den Gummischlauch verdrängt man sodann die Salzlösung aus dem Kapillarrohre und läßt die ersten 4 Tropfen abtropfen. Das nächste Tröpfchen Mischung entleert man auf die Mitte des Bodens der zuvor sorgfältig gereinigten Zählkammer. Sofort wird das Deckglas aufgesetzt und der Apparat auf den horizontalen Tisch des Mikroskops für einige Minuten ruhig hingestellt, damit die Blutkörper sich absetzen.

Zum Gelingen dieser Arbeit ist eine gründliche vorgängige Reinigung von Zählkammer und Deckglas erforderlich. Wenn diese genügend war, so kann man beim Andrücken des Deckglases an die Oberfläche von W an den Druckstellen Farbenerscheinungen (Newtonsche Farbenringe) wahrnehmen, die anzeigen, dass das Deckglas richtig anliegt. Zugleich ist zu bemerken, daß keine Flüssigkeit über die Rinne hinaus zwischen Deckglas und Kammerwand eindringen darf. Das Tröpfchen Blutmischung muß

von solcher Größe sein, daß es in der Mitte der Kammer stehen bleibt, hier aber auch in der Ausdehnung von einigen Quadrat-Millimetern den Raum zwischen Deckglas und Kammerboden erfüllt.

Besondere Sorgfalt ist auf die Reinhaltung der Pipette zu verwenden. Man spüle nach jedesmaligem Gebrauche 1. mit der Verdünnungsflüssigkeit, 2. mit destilliertem Wasser, 3. mit absolutem Alkohol und 4. mit Äther die Pipette aus. Man spart Zeit, wenn man zu diesem Behufe den Schlauch abnimmt und die Flüssigkeiten aus dem nun frei gewordenen Ende ausbläst. Bleibt trotzdem noch Staub oder Fibringerinnsel innen haften — was die Messung merklich fälschen oder den Gebrauch gänzlich stören würde — so muß man suchen, die Verunreinigung mit starken Säuren und Alkalien durch wiederholtes Einsaugen und Ausblasen zu entfernen. Eine in der Kapillare geronnene Blutsäule wird durch Einschieben eines Pferdehaares beweglich gemacht und ausgeblasen[1]).

Sind die Blutkörper abgesetzt, so erblickt man bei ziemlich enger Blende am Boden der Kammer die eingeritzte Felderteilung c und auf dieser die zu zählenden Blutkörper.

Jedes Feld dieser Gitterteilung umgrenzt einen Flächenraum von $^1/_{400}$ Quadratmillimeter (vergl. S. 118). Da der Abstand des Bodens der Kammer von der unteren Fläche des Deckglases genau $^1/_{10}$ Millimeter beträgt, so befindet sich über jedem Felde ein Raum von $^1/_{4000}$ Kubikmillimeter Inhalt. Die Körper, die in diesem Raume enthalten waren, liegen nach

[1]) Hahn-München empfiehlt zur Entfernung von Fibringerinnseln aus der Kapillare künstliche Verdauung der Gerinnsel mit einer Lösung von ca. 0,1 Pepsin in 100 ccm einer 1 %igen Salzsäurelösung entweder im Brüteschrank (ca. 37° C) oder bei Zimmertemperatur. Ist alles gelöst, muß mit destilliertem Wasser, Alkohol und Äther nachgespült werden.

dem Absetzen am Boden der Kammer, wo sie gezählt werden.

Die Verdünnung 1 : 200 ist die Norm, bei plethorischen Menschen nimmt man 1 : 400, bei sehr anämischen 1 : 100. Am bequemsten überschaut man etwa 5—6 Blutkörper im Quadrate. Man zählt so in allen 16 × 16 Feldern 1200 bis 1500 Blutkörper. Das Ergebnis hat dann einen (empirisch festgestellten) Gesamtfehler von 2 %. Eine solche Zählung erfordert etwa eine halbe Stunde.

Die Ausrechnung ist folgende: Wenn in 200 Feldern beispielsweise 2570 Blutkörper gezählt sind, so liegen in einem Felde durchschnittlich $\frac{2570}{200}$. Da ein Feld einer Flüssigkeitssäule von $^1/_{10}$ mm Höhe und $^1/_{400}$ qmm Grundfläche entspricht, so sind in 1 cmm 10 . 400 = 4000 mal so viel Körper enthalten. War nun eine Verdünnung von 1 : 100 angewandt worden, so sind im Blute noch 100 mal mehr Zellen enthalten, als in der Verdünnung, also $\frac{2570 . 4000 . 100}{200} = 5\,140000$. Oder allgemein: Hatte man bei einer Verdünnung des Blutes von 1 : a in n Feldern im ganzen z Zellen gezählt, so befanden sich in 1 Kubikmillimeter (cmm) unverdünnten Blutes $4000 . \frac{a . z}{n}$ Blutkörperchen. Erleichtert wird die Zählung durch Anwendung eines beweglichen Objekttisches.

Die **farblosen Blutkörper** besitzen deutliche Kernfigur, die auf Zusatz verdünnter Essigsäure schärfer hervortritt. Es sind rundliche Scheiben, deren Oberfläche fein gekörnt erscheint. Ihr Durchmesser beträgt 3—15 μ; man unterscheidet mehrere Arten je nach Größe, Korn und Verhalten zu Farbstoffen. In 1 cmm Blut des gesunden Erwachsenen

hat man 6000—10000 farblose Blutkörper gezählt, im Mittel 8000 (für Kinder 9500). Das Verhältnis der farblosen zu den roten Blutkörpern beträgt 1 : 1000 bis 1 : 400; sind mehr farblose Blutkörperchen vorhanden, so liegt Leukozytose vor. Jedoch ist zu berücksichtigen, daß nach einer eiweißreichen Mahlzeit die Zahl der farblosen Blutkörper stark vermehrt sein kann. Leute, deren Blutkörper gezählt werden sollen, müssen daher bei Entnahme der Blutprobe nüchtern sein.

Zur **Zählung der weißen Blutkörper** verwendet man eine Mischpipette, die Verdünnungen im Verhältnisse von 1 : 10 gestattet, und bedient sich zur Verdünnung statt der Salzlösung einer wässerigen $^1/_3$—$^1/_2$ prozentigen Lösung von reiner Essigsäure (Eisessig), der man auf je 300 g 0,05 g Methylviolett oder Gentianaviolett zugesetzt hat. In dieser Flüssigkeit werden die roten Blutkörper nahezu unsichtbar, während die weißen deutlich hervortreten, durch den zugesetzten Farbstoff gefärbt werden und sich leicht zählen lassen.

Die Berechnung geschieht wie bei den roten Blutkörpern, wobei man die schwächere Verdünnung entsprechend zu berücksichtigen hat. Die Zählung gewinnt an Genauigkeit bei Verwendung einer Zählkammer mit größerem Zählnetz (nach W. Türk).

Den **Raum, den die roten und die weißen Blutkörperchen** einnehmen, kann man schätzen, wenn man das Blut in Kapillaren, die mit Teilung versehen sind — man nennt ein solches Rohr Hämatokrit — bei 10000 Umdrehungen in der Minute zentrifugiert, bis der Raum, auf den die ausgeschleuderten Blutkörperchen zusammengedrängt sind, sich nicht mehr vermindert (Capps). Ursprünglich verdünnten Blix und Hedin das wie bei der Blutkörperzählung aufgesaugte Blut mit dem gleichen

Raumteile Müllerscher Flüssigkeit[1]) und zentrifugierten die Mischung, doch arbeitet man ohne Verdünnung genauer. Beim Ausschleudern sammeln sich die roten Blutkörper zu unterst, darüber bildet sich die getrennte Schicht der farblosen Blutkörper. Über das Ausschleudern selbst ist bei Harn S. 93 das Erforderliche mitgeteilt.

Zur **unmittelbaren mikroskopischen Blutuntersuchung** benützt man teils frische, teils Trockenpräparate. Das Blut wird sofort nach dem wie bei der Blutkörperzählung ausgeführten Einstich auf einem wohlgereinigten und dreimal durch eine nicht leuchtende Flamme gezogenen Deckglase aufgefangen, und zwar nur ganz wenig — der Bruchteil eines Tropfens — und dann sofort ein zweites Deckglas aufgelegt. Dabei vermeidet man jeden Druck, die Ausbreitung soll lediglich durch Kapillaranziehung bewirkt werden, und diese genügt auch vollständig zur Erzielung einer ganz dünn ausgebreiteten Blutschicht, wenn nur die Menge des auf das Deckgläschen gebrachten Blutes gering genug war. Wenn möglich soll der Raum zwischen beiden Deckgläsern nicht ganz ausgefüllt werden. Das so erhaltene frische Präparat kann nun unmittelbar untersucht werden. Will man Trockenpräparate benützen, so werden die beiden Deckgläschen von vornherein so gelegt, daß die Ecken nicht aufeinander liegen. Hat sich das Blut zwischen den Deckgläschen ausgebreitet, so faßt man die freie Ecke des einen Deckglases mit einer Pinzette, dann eine gegenüber befindliche Ecke des anderen Deckglases mit einer zweiten Pinzette, zieht die beiden Deckgläser in entgegengesetzten Richtungen, aber in derselben Ebene voneinander und läßt sie in der Luft an einem geschützten Orte (unter dem Deckel einer Pappschachtel)

---

[1]) 0,5 g Natriumsulfat, 1,0 g Kaliumdichromat, 50 g Wasser

trocknen. Die vollständig trockenen Präparate werden durch Erhitzen auf 110—120° (dreimaliges Durchziehen durch eine nichtleuchtende Flamme) oder durch 5 Minuten langes Einlegen in absoluten Alkohol oder durch mehrstündiges Einlegen in eine Mischung gleicher Teile Alkohol und Äther gehärtet und sind dann dauernd haltbar.

IX. Untersuchung des Mageninhalts.

Allgemeines. Der Magen ist eine Erweiterung des Verdauungsrohres, die zwei physiologisch verschiedene Aufgaben hat, deren Erfüllung den beiden Teilen des Magens, dem Fundus- und dem Pylorusteile obliegt. Die im Munde zerkleinerten und eingespeichelten Speisen werden im Magenfundus aufgesammelt. Der Fundus kann durch zeitweise auftretende starke Zusammenziehung der wie ein Schließmuskel wirkenden Muskulatur von dem Pylorusteile abgesperrt werden. Im leeren Magen berühren sich die Magenwandungen. Der Speisebrei wird im Fundus aufgenommen; die zuerst dahin gelangten Anteile legen sich an die Schleimhaut an und werden durch die nachfolgenden an der Schleimhaut ausgebreitet. Dadurch findet eine Schichtung des Speisebreies statt derart, daß die zuerst aufgenommene Nahrung in innige Berührung mit der Schleimhaut kommt, dabei mit deren Absonderungen getränkt und dann dem Pylorusteile zugeschoben wird, während die anfänglich vor der Berührung mit der Magenschleimhaut geschützte letztaufgenommene Nahrung zuerst die Mundspeichelverdauung noch fortsetzen kann, um darauf allmählich nachzufolgen. Die mit pepsinhaltiger Magenabsonderung gemengten Teile des Speisebreies werden im Pylorusteile durch dessen kräftige Bewegungen mit Magensaft gründlich gemischt, verdaut und schließlich stoßweise in den Darm ge-

trieben. Den im Magen während der Verdauung sich vorfindenden breiigen oder dicklichen Inhalt nennt man Chymus.

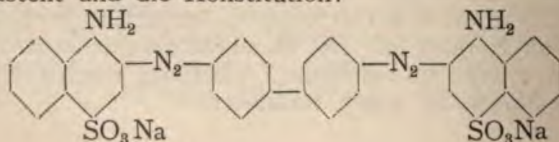
Die Absonderung des Magensaftes findet nicht fortwährend gleichmäßig statt, sondern wird durch psychische Einflüsse und durch Reize auf die Schleimhäute des Magens oder des Darmes vermehrt. Der von Nahrung freie Magensaft des Menschen ist — rein gewonnen — eine klare oder nur wenig trübe, fast farblose Flüssigkeit von fadem, säuerlichem Geschmacke und stark saurer Reaktion. Er enthält Drüsenzellen, Schleimkörperchen und Reste von Zylinderepithelzellen. Das spezifische Gewicht beträgt 1,001—1,010, die Trockensubstanz 1,7—2,7 %. Die saure Reaktion des normalen Magensaftes rührt hauptsächlich von freier Salzsäure her; der Gehalt ist beim Menschen schwankend, man nimmt 0,2 bis 0,3 % und etwas mehr an. Nach Aufnahme von Nahrung steigt der Säuregehalt bis gegen 0,6 %. Die neben der Salzsäure hauptsächlich wirksamen Bestandteile des Magensaftes sind Pepsin, Lab und Lipase.

Das Pepsin ist ein ungeformtes Ferment, also ein sogenanntes Enzym, das aber in neutraler oder alkalischer Lösung unwirksam ist. In seiner sauren Lösung (0,2—0,4 % HCl) quillt geronnenes Eiweiß, Fibrin usw. rasch auf und wird gelöst. Pepsin bewirkt im wesentlichen die Eiweißverdauung. Auch die leimgebenden Stoffe des Bindegewebes, der Knorpel und der Knochen werden durch saure Pepsinflüssigkeit gelöst und chemisch umgewandelt. Oxyhämoglobin wird in Hämatin und Eiweiß gespalten; dadurch wird das Blut im Magen in eine schwarzbraune Masse umgewandelt. Tierische Zellmembran wird um so weniger angegriffen, je reicher sie an Keratin ist. Die Membran der Pflanzenzellen, Fett, Stärke und einfache Zuckerarten werden durch den Magensaft wenig verändert.

Das Labferment (Chymosin) bringt Milch oder kalkhaltige Kaseïnlösungen in neutraler oder sogar schwach alkalischer Lösung zum Gerinnen. Wird die 0,3% HCl enthaltende Lösung der Labfermente 48 Stunden lang auf 37—40° C erhitzt, so ist fast alles Chymosin zerstört, während das Pepsin wirksam bleibt; auf diese Weise können chymosinfreie Pepsinlösungen gewonnen werden.

Die Magenlipase soll eine Fettspaltung schon im Magen bewirken, falls das Fett sich in feiner Zerteilung befindet, wie das im Eigelb, Rahm und in der Milch der Fall ist. Je nach Menge und Beschaffenheit der Nahrung verbleibt der Speisebrei mehr oder minder lange im Magen; im allgemeinen kann man annehmen, daß der Magen 1½ bis 5½ Stunden nach der Mahlzeit leer geworden ist. Gewöhnlich verlassen die Kohlehydrate den Magen am schnellsten, die Eiweißstoffe langsamer, das Fett am langsamsten. Alle werden im Magen für die Darmverdauung vorbereitet. Der Magen verdaut in geeigneter Wärme sich selbst, sobald oder soweit seine Gewebe nicht mehr von Blut durchströmt werden. Das durch den Blutumlauf lebendig erhaltene Protoplasma der Zellen vermag den Verdauungsflüssigkeiten Widerstand zu leisten, was nach dem Aufhören des Blutumlaufs nicht mehr der Fall ist. Die wichtigste Aufgabe der chemischen Untersuchung des Magensaftes (Chymus) ist die Prüfung auf Art und Menge der vorhandenen Säuren.

Nachweis freier Salzsäure. Man prüft am einfachsten a) mit Kongorot, einem Farbstoffe, der aus Diphenyltetrazochlorid und Natrium-Naphthionat entsteht und die Konstitution:



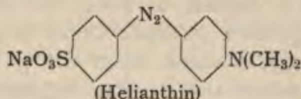
besitzt. 0,1 g dieses Farbstoffes werden in 100 ccm Wasser gelöst, durch diese Lösung große Streifen feinsten glatten Filtrierpapiers gezogen und getrocknet. Aus dem so erhaltenen Kongopapiere schneidet man kleine, als Reagenspapier geeignete Streifen. Diese roten Streifen werden durch Mineralsäuren deutlich kornblumenblau gefärbt. Die Reaktion tritt schon bei einem Gehalte von 0,01 % HCl ein, doch verfärben stärkere Lösungen vieler organischer Säuren ebenfalls das Kongopapier. Erhält man mit Kongopapier nur eine hellblaue Färbung, so prüft man noch mit anderen Reagenzien. Am besten geschieht dies

b) nach Günzburg mit einer Lösung von 0,6 g Phloroglucin, 0,3 g Vanillin und 9 g Alkohol. Von diesem Reagens erhitzt man 1—3 Tropfen mit ebensoviel filtriertem Magensafte in einem Porzellanschälchen vorsichtig unter Umschwenken über kleiner Flamme. Der eingetrocknete Rand der Mischung färbt sich bei Gegenwart freier Salzsäure schön karmoisinrot; anderenfalls erhält man einen braungelben Rückstand. Weitere Prüfungen sind folgende:

c) Einige Tropfen einer 0,5prozentigen Lösung von **d**imethyl**a**mido**a**zo**b**enzolsulfonsaurem Natrium [1]) werden mit etwas filtriertem oder klar abgesetztem Magensafte gemischt. Bei Gegenwart von Mineralsäure entsteht eine stachelbeerrote (schwach fuchsinartige) Färbung; organische Säuren geben nur orange

---

[1]) Dies Reagens wird nach den im Drucke des Namens durch fette Buchstaben hervorgehobenen Anfangslettern in medizinischen Kreisen kurz Daab genannt. Es heißt auch
Helianthin, Orange III, Dimethylanilin-Orange, Methylorange, Tropäolin:



(Helianthin)

Färbung. Der Farbstoff ist ein zur quantitativen Titrierung geeigneter Indikator. Sättigt man nämlich die himbeerrote Lösung mit n/10 Natron, so tritt die Orangefärbung der organischen Säuren auf, sobald die Mineralsäure neutralisiert ist. Fügt man jetzt 1–2 Tropfen einer einprozentigen alkoholischen Lösung von Phenolphthaleïn zu und titriert weiter, so wird bei Sättigung der organischen Säuren die gelbe Färbung des Helianthins zurückgebildet, gleichzeitig tritt aber auch die bekannte Endreaktion des Phenolphthaleïns auf. Zu einer solchen Titrierung ist filtrierter Magensaft am geeignetsten. Man verwendet davon 10 ccm für die Bestimmung.

Die Gesamtazidität kann man auch mit 10 ccm nicht filtriertem Mageninhalt und n/10 Natron nur mit Phenolphthaleïn als Indikator bestimmen. Dabei kann durch Tüpfelproben mit Kongopapier die zur Sättigung der freien Salzsäure erforderte Menge Natron festgestellt werden. Diese Weise wird da vorgezogen, wo es sich um Mitbestimmung der an unlösliches Eiweiß gebundenen Säuremenge handelt. Als „Azidität“ pflegt man die Anzahl der Kubikzentimeter n/10 Natron zu bezeichnen, durch die 100 ccm Magensaft neutralisiert werden.

Zur **raschen Bestimmung des Salzsäuregehaltes** werden 10 ccm Mageninhalt mit 100 ccm Äther ausgeschüttelt, der Äther abgehoben und dem Magensafte dann vorsichtig soviel n/10 Natronlauge zugefügt, bis Kongopapier bei einer Tüpfelprobe nicht mehr graublau gefärbt wird.

Eine **genauere Bestimmung der freien Salzsäure** wird durch das Verfahren nach Sjöqvist ermöglicht. Es beruht darauf, daß der Magensaft seinem Säuregehalte entsprechend Baryumkarbonat zu lösen vermag; werden dann die gebildeten Salze geglüht, so entsteht aus den organischen Verbin-

dungen unlösliches Baryumkarbonat, während das durch die freie Salzsäure des Magens in Lösung gebrachte Chlorbaryum auch nach dem Glühen löslich bleibt und seiner Menge nach bestimmt werden kann. Zur Ausführung einer Bestimmung werden in einem reichlich großen Tiegel 10 ccm Magensaft und etwa 2 g chemisch reines Baryumkarbonat (enthält dieses Alkali, so wird die Salzsäure zu niedrig gefunden) mit einem Glasstabe gut gemischt, der Glasstab vollständig abgespritzt, die Mischung mit dem Abgespritzten auf dem Wasserbade zur Trockene verdampft, dann im Luftbade bei 180^0 völlig ausgetrocknet, über freier Flamme verkohlt und gelinde geglüht, bis die Kohle zum größeren Teile verascht ist. Dann läßt man erkalten, zieht den Glührückstand mit heißem Wasser aus, filtriert durch ein aschefreies Filter von höchstens 9 cm Durchmesser und wäscht mit heißem Wasser bis man annehmen kann, daß alles Baryumchlorid sich im Filtrate befindet. Filtrat und Waschwasser betragen bei geschickter Arbeit 50—60 ccm. Hat man mehr erhalten, so muß die Lösung auf 50 ccm abgedampft werden. Davon, daß genügend ausgewaschen war, überzeugt man sich, indem man die letztablaufenden Tropfen des Waschwassers mit Salpetersäure ansäuert und mit Silbernitrat auf Chlorgehalt prüft. Tritt dabei keine Reaktion ein, so hat man den gesamten Chlorgehalt aus der verkohlten Masse ausgezogen. In Filtrat und Waschwässern bestimmt man den Gehalt an Baryumchlorid durch Fällung der siedend heißen Flüssigkeit mit einem möglichst geringen Überschusse stark verdünnter heißer Schwefelsäure in der bei Baryum- bezw. Sulfatbestimmungen üblichen Weise. 1 Mol. SO_4Ba entspricht 2 Mol. HCl. Das Verfahren gibt nicht allein die freie, sondern auch die an Eiweiß gebundene, also die Gesamtmenge der nicht an anorganische Basen

gebundenen Salzsäure — die sogenannte physiologische Salzsäure — an. Ein Fehler könnte bei der Bestimmung nach Sjöqvist beim Vorhandensein der chlorwasserstoffsauren Salze flüchtiger Basen (Chlorammonium usw.) entstehen, da auch aus diesen Chlorbaryum sich bilden, der Salzsäuregehalt des Magensaftes also zu hoch gefunden werden könnte.

Das Salzsäuredefizit im Mageninhalt bestimmt man, indem man zu 10 ccm Magensaft (der keine freie Salzsäure enthält) aus einer Bürette n/10 Salzsäure tropfenweise zusetzt, bis das Gemisch Kongopapier blau färbt. Im Gutachten gibt man, wie bei Angabe des Aziditätsgrades, die für 100 ccm Magensaft erforderliche Menge n/10 Säure an.

Nachweis und Bestimmung der Milchsäure. Nach dem Genusse kohlehydratreicher Nahrung kann Milchsäure, bisweilen auch Essigsäure und Buttersäure im Mageninhalte auftreten. Die Milchsäure (α-Oxypropionsäure, [d + l] Milchsäure $CH_3CHOHCOOH$) bildet einen leicht in Wasser, Alkohol, schwerer in Äther löslichen Sirup. Zum Nachweise wird sie am besten dem stark sauren oder mit Salzsäure stark angesäuerten Mageninhalte durch Ausschütteln mit Äther entzogen, der von Alkohol und Äther völlig befreite Verdunstungsrückstand der Ätherlösung mit Wasser aufgenommen, filtriert und das Filtrat geprüft. Dazu eignen sich folgende Versuche:

a) 10 ccm 2 prozentiges Karbolwasser werden mit einigen Tropfen verdünnter Eisenchloridlösung versetzt, so daß eine amethystblaue Flüssigkeit entsteht. Zu einigen Kubikzentimetern dieser Flüssigkeit setzt man einige Tropfen der zu prüfenden Flüssigkeit; bei Gegenwart von Milchsäure wird die Mischung kanariengelb (Uffelmann). Die Erscheinung kann noch mit Lösungen beobachtet

werden, die nur 0,01 % Milchsäure enthalten, doch kennzeichnet sie nicht die Milchsäure allein, sondern kommt auch anderen Oxysäuren zu, z. B. der Äpfelsäure, Weinsäure, Zitronensäure.

b) Eine Probe der auf Milchsäure zu prüfenden Flüssigkeit — die aber völlig frei von Alkohol sein muß — wird mit Natronlauge alkalisch gemacht und dann mit wässeriger Jodjodkaliumlösung versetzt bis die Mischung beim Erwärmen gelb bleibt. Dabei bildet sich, wenn Milchsäure zugegen war, Jodoform, das an seinem Geruche und bei der mikroskopischen Untersuchung an der Form seiner Kristalle erkannt wird. Man kann die Umwandlung in Jodoform zu einer **quantitativen Bestimmung** umgestalten, indem man n/10 Jodlösung und Alkalilauge anwendet, nach der Reaktion mit Salzsäure übersättigt, mit n/10 Natriumarsenitlösung im Überschusse versetzt und den Überschuß mit Jodlösung (Stärkelösung als Indikator) zurücktitriert.

c) Das bei der vorigen Reaktion gebildete Jodoform kann auch in Isonitril übergeführt und an dessen abscheulichem Geruche erkannt werden. Zu dem Zwecke benutzt A. C. Vournasos eine Lösung von 1 g Jod, 0,5 g Kaliumjodid, 50 ccm Wasser und 5 g Methylamin. Von diesem Reagens werden 1—2 ccm zu der stark alkalisch gemachten heißen Flüssigkeit gesetzt, die zu prüfen ist, und dann wird nochmals aufgekocht. Die Probe soll noch 0,005 % Milchsäure unmittelbar im Magensafte erkennen lassen. Croner und Cronheim ersetzten das schwer zugängliche Methylamin durch Anilin.

d) Erhitzt man eine milchsäurehaltige Flüssigkeit mit einigen Tropfen Kaliumpermanganatlösung, so wird die Milchsäure unter Abscheidung von Mangansuperoxyd zu Kohlendioxyd und Acetaldehyd oxydiert. Letzterer kann an seinem Geruche, ersteres daran erkannt werden, daß es Barytwasser trübt.

Bei der Prüfung auf Pepsin wird stets eine Kontrollprobe mit einer wässerigen Flüssigkeit von demselben Säuregehalte wie das zu prüfende Gemisch und bei derselben Temperatur angestellt. Dabei bleibt zu berücksichtigen, daß das von den Hauptzellen der Magenwandung abgesonderte Pepsinogen durch die Salzsäure des Magens in Pepsin übergeführt wird, und daß dessen verdauende Wirksamkeit wesentlich vom Salzsäuregehalte der verdauenden Flüssigkeit abhängt. Zur Prüfung dieser Wirksamkeit benützt man entweder das geronnene Eiweiß eines hartgesottenen Eies, aus dem mit einem Korkbohrer Scheibchen ausgestochen werden, oder Fibrin. Wird dieses unmittelbar nach dem Schlagen des Blutes vollständig ausgewaschen, stark ausgepreßt und in Glyzerin eingelegt, so bleibt es fast beliebig lange für die Pepsinprobe brauchbar. Man verwendet in kleine gleichmäßige Stückchen zerschnittenes Fibrin, das man mit einer starken Lösung von neutralem Karmin[1]) färbt, mit Wasser auswäscht und in karminhaltigem Glyzerin aufbewahrt.

Zur Ausführung einer Prüfung wird der Magensaft oder der, wenn nötig, mit 0,1 prozentiger Salzsäure verdünnte Mageninhalt filtriert und eine Probe des Filtrates im Reagierglase mit einem Eiweißscheibchen oder mit einigen durch Abspülen mit Wasser und Abtrocknen von Glyzerin befreiten Fibrinstückchen versetzt. Die mit einem Wattebausch verschlossenen Reagiergläser läßt man bei Zimmertemperatur — besser im Brutschranke oder im Wasserbade bei 37,5 °C — stehen. Die verdauende Wirkung zeigt sich bei dem Karmin-Fibrin durch Rotfärbung der Flüssigkeit, bei dem Eiweiß durch Abrundung der Kanten; bei beiden kann

[1]) 3 g Karmin werden in 20 ccm gesättigter Ammoniakflüssigkeit gelöst, die Lösung mit Eisessig neutralisiert und nach 2—4 Wochen filtriert (Hamann).

schließlich völlige Lösung eintreten. Konnte nach einer oder einigen Stunden eine verdauende Wirkung nicht bemerkt werden, so ist Pepsin nicht oder nur in Spuren zugegen. Eiweiß wird im allgemeinen leichter gelöst als Fibrin.

Zur Prüfung auf Labenzym neutralisiert man zuerst die zu prüfende Flüssigkeit genau mit n/10 Alkali und empfindlichem Lackmuspapier als Indikator, eventuell bis zur amphoteren Reaktion. Alsdann setzt man zu 10 ccm ungekochter, nicht sauer reagierender Kuhmilch 2 ccm der neutralisierten, filtrierten Flüssigkeit, verstopft die Mündung des Reagierglases mit Watte und läßt im Brutschranke oder im Wasserbade bei 37,5 °C stehen. Die Gegenwart von Labferment wird dadurch angezeigt, daß die Mischung ohne Änderung ihrer neutralen Reaktion innerhalb 10—20 Minuten zu einer Gallerte gerinnt. War die Milch durch den Zusatz der Magenflüssigkeit etwas zu stark verdünnt worden, so scheiden sich nur größere Flocken ab. Kalksalze können eine Gerinnung auch bei Abwesenheit von Lab bewirken.

Das Trypsin ist das wichtigste eiweißspaltende Ferment im Darme; es wird als Trypsinogen abgeschieden. Das Trypsin ist in neutraler oder schwach alkalischer[1]) Lösung am wirksamsten; im sauren Magensaft wird es rasch zerstört. Bei Verengerung des Zwölffingerdarms findet sich im Magen oft gallehaltige Flüssigkeit, die den Saft aus dem Zwölffingerdarme enthält. Reagiert die Flüssigkeit alkalisch, so läßt sich in ihr tryptische Verdauung nachweisen. Dazu eignet sich am besten ungekochtes Fibrin, wie bei den Versuchen mit Pepsin, doch darf es nicht mit dem in Alkali leicht löslichen Karmin gefärbt sein. Man verwendet ungefärbtes oder mit Magdalarot gefärbtes

[1]) 0,3—0,4 % CO_3Na_2 bei 37—40° C.

Fibrin, bringt etwas davon zu der alkalisch reagierenden Flüssigkeit und hält das Gemisch in mit Wattestopfen versehenen Reagiergläsern bei 37—40°. Um Fäulnis zu vermeiden setzt man zweckmäßig eine Spur Chloroform zu. Auch hier ist ein Kontrollversuch mit gleichstark alkalischer Flüssigkeit ohne Zusatz des Magensaftes erforderlich. Bei Gegenwart von Trypsin wird das Fibrin schnell gelöst; bei Anwendung gefärbten Fibrins färbt sich die Flüssigkeit dem Gelösten entsprechend rot.

Die Prüfung auf Stärkeverdauung geschieht sehr einfach durch Versetzen des Mageninhaltes mit Jodjodkaliumlösung bis zur schwachen Gelbfärbung, wobei unverdaute Stärke sich blau färbt. Bei starker Salzsäureabsonderung im Magen pflegt die Stärke wenig verdaut zu sein; bei herabgesetzter Salzsäureabscheidung ist die Stärkeverdauung gut, weil die Speichelfermente länger haben einwirken können.

Die Eiweißverdauung im Magen läßt sich folgendermaßen erkennen: Tritt beim genauen Neutralisieren der sauren Magenflüssigkeit starke Trübung ein, die durch Säure gelöst wird, so deutet das auf Gegenwart reichlicher Mengen von Azid-Albumin (Syntonin). Erhält man nach Zusatz von Kochsalzlösung mit Eisessig eine Trübung, die beim Erhitzen verschwindet und beim Erkalten wiederkehrt, so liegen die etwas weiter verdauten Albumosen (Hemialbumose, Propepton) vor. Zum Nachweise des Peptons müssen alle anderen Eiweißstoffe in der (S. 9 u. 10) bei Harn beschriebenen Weise durch Fällung mit Eisenchloridlösung und Natriumazetat in der Siedehitze entfernt werden. Erst dann darf man mit der alkalisch gemachten Lösung die Biuretreaktion (purpurrote Färbung mit verdünnter Kupfersulfatlösung) anstellen.

Die Prüfung des Mageninhalts auf Blut

geschieht in der S. 107 für den Nachweis von Blut im Kote angegebenen Weise.

Anmerkung. Zur Herstellung einer magensaftähnlichen Flüssigkeit kann man Pepton und etwas Traubenzucker in Wasser lösen und der Lösung je nach Wunsch Salzsäure, Milchsäure, Essigsäure usw. zusetzen.

X. Kryoskopie.

Der Gefrierpunkt einer Flüssigkeit sinkt, wenn in ihr irgend ein Stoff gelöst wird. Das war schon den alten Griechen bekannt; sie wußten, daß das salzhaltige Meerwasser nicht gefror bei Temperaturen, die Süßwasser in Eis verwandelten. Es hat lange gedauert, bis man fand, daß ganz allgemein der Gefrierpunkt eines Lösungsmittels durch Auflösung äquimolekularer Mengen beliebiger Stoffe um gleich viel erniedrigt wird. Die Gefrierpunktserniedrigung eines Lösungsmittels, die nach dem Auflösen gleicher Moleküle beliebiger Stoffe eintritt, ist also gleich; man kann sie durch eine Konstante k ausdrücken. Bezeichnen wir mit $\triangle$ die beobachtete Gefrierpunktserniedrigung, mit m das Molekulargewicht und mit p den Prozentgehalt des gelösten Stoffes, und berücksichtigen wir, daß die Gefrierpunktserniedrigung gelöster Stoffe der Konzentration proportional wächst, so gelangen wir zu der Formel $k = \frac{m \triangle}{p}$ oder $m = \frac{p \cdot k}{\triangle}$. Die letztere Formel wird, wie bekannt, zur Bestimmung des Molekulargewichtes umgeformt; ist G = Gramme angewandten Lösungsmittels,

g = Gramme abgewogenen Stoffes, so ist

$$p = \frac{100\,g}{G};$$

dieser Wert oben eingesetzt gibt $m = \frac{100 \cdot g \cdot k}{G \triangle}$.

Äquimolekulare Lösungen zeigen gleichen osmotischen Druck. Da nun osmotische Vorgänge bei den das Leben kennzeichnenden Umwandlungen eine Hauptrolle spielen, so erscheint ohne weiteres die Bestimmung des osmotischen Druckes oder der ihm parallelen Gefrierpunktserniedrigung geeignet, Einblicke in den Lebensprozeß zu verschaffen. Dazu muß aber die Formel $k = \frac{m \cdot \triangle}{p}$ so umgeformt werden, daß wir aus der Gefrierpunktserniedrigung $\triangle$, die jedesmal festgestellt wird, einen bestimmten Begriff gewinnen. Das ist in der Tat möglich, weil wir bei allen Lebensvorgängen es mit wässerigen Lösungen zu tun haben, deren Konstante immer dieselbe ist, $k = 18{,}5$. Bringen wir nun in unserer Formel die Unbekannten auf eine Seite, so erhalten wir $\frac{m}{p} = \frac{\triangle}{k}$, und diesen Begriff $\frac{m}{p}$ nennen wir die molekulare oder osmotische Konzentration der betreffenden Flüssigkeit. Ihre Bestimmung wird in ärztlichen Kreisen mit Vorliebe als Kryoskopie bezeichnet. Oft wird auch nur die Feststellung der Gefrierpunktserniedrigung $\triangle$ verlangt, aus der sich dann allerdings der Wert $\frac{m}{p} = \frac{\triangle}{18{,}5}$ ohne weiteres ergibt. Im allgemeinen ist die Gefrierpunktserniedrigung des Blutserums bei gesunden Menschen überaus gleichmäßig ($-0{,}55^0$ bis $-0{,}59^0$, meist $-0{,}56^0$ bis $-0{,}58^0$); man bezeichnet sie besonders mit d. Die Gefrierpunktserniedrigung des Harns, die man allgemein mit $\triangle$ auszeichnet, ist von zahlreichen Umständen abhängig und bleibt daher nicht gleich ($-0{,}87^0$ bis $-2{,}35^0$). Man hat versucht, aus der Gefrierpunktserniedrigung und dem spezifischen Gewichte oder der Urinmenge, deren Chlorgehalt, zutreffendenfalls unter Hinzuziehung des Körpergewichts usw. Formeln zur Unterstützung einer Er-

kennung verschiedener Krankheiten zu schaffen, doch haben die bezüglichen Bemühungen keinen durchschlagenden Erfolg zu verzeichnen. Als festgestellt kann gelten, daß bei Niereninsuffizienz meist eine Erhöhung der molekularen Konzentration des Blutserums[1]) gefunden wird. Die Kryoskopie des Harns ist nur in beschränktem Maße verwertbar, die von Speichel, Milch, Magensaft, Galle, Kot, Schweiß ergibt keine praktisch brauchbaren Zahlen; aussichtsreicher ist die Untersuchung der Ergüsse seröser Körperhöhlen, die möglicherweise Schlüsse auf die Resorption der Exsudate erlaubt.

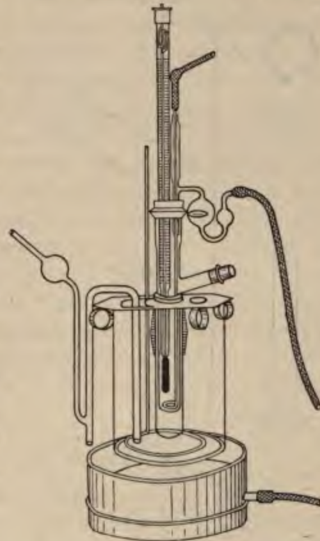


Abb. 11.
Gefrierapparat nach Beckmann, ältere Form.

Zur Ausführung einer kryoskopischen Bestimmung wird am besten der durch Abb. 11 und 12 wiedergegebene Gefrierapparat nach Beckmann benützt. Abb. 11 zeigt die ältere Form des Apparates mit Glasheber zum Abheben von Kühlflüssigkeit und

1) Die erforderliche Blutmenge (beim Gewinnen des Serums durch Absetzenlassen 40 ccm, durch Zentrifugieren 25—30 ccm) wird am besten mit einer sterilisierten getrockneten, nicht zu engen Kanüle der Vena mediana in der Ellenbogenbeuge entnommen nach Stauung des Blutes durch elastische Kompression am Oberarme, die gelockert werden kann, sobald der Abfluß des Blutes beginnt, und zwar möglichst morgens vom nüchternen Kranken.

Blechuntersatz mit Ablauf zum Ableiten der abgeheberten Flüssigkeit; neben dem Thermometer geht

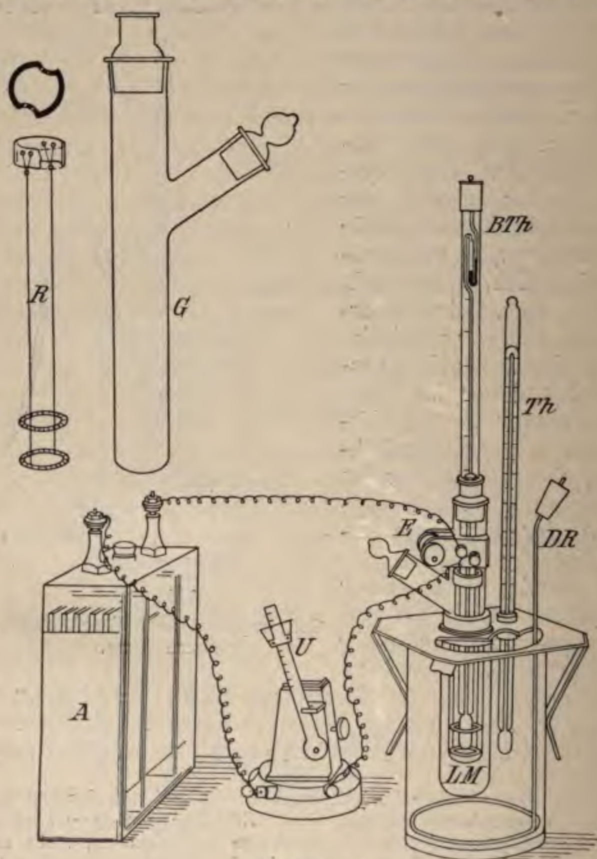


Abb. 12.
Gefrierapparat nach Beckmann, vollkommenste Form.

ein Rührer zum Handgebrauch bis in den Inhalt des Gefriergefäßes, der vor Feuchtigkeit durch einen etwas

Schwefelsäure im Kugelgefäße passierenden trocknen Luftstrom geschützt wird[1]). Die neueste und vollkommenste Form des Beckmannschen Gefrierapparates zeigt Abb. 12. Die obere Kappe des aus Glas geblasenenGefriergefäßes G ist luftdicht eingeschliffen; sie wird mit Hilfe eines luftdichten Korkstöpsels geschlossen, der in seiner Durchbohrung das zur Bestimmung der Gefrierpunktserniedrigung dienende Beckmannsche Thermometer, BTh trägt. Dies Thermometer ist genau senkrecht in die Achse des Gefriergefäßes gerichtet und soll mindestens 2 mm vom Boden des Gefrierapparates entfernt bleiben. Das Thermometer ist frei umgeben von dem Rührer R, dessen oberer dicker Ring aus emailliertem Eisen besteht, während Drähte und Rührscheiben aus Platin gefertigt sind. Seitlich trägt das Gefriergefäß einen Rohrstutzen mit aufgeschliffenem Stöpsel; durch den Stutzen können Stoffe in den zusammengesetzten Apparat gebracht werden. Das Gefriergefäß ist umgeben von dem gläsernen Luftmantel LM, in den es mit einem Korkringe eingepaßt ist. Der breit umgelegte Rand des Luftmantels ruht auf dem Rande der in der Mitte des starken Blechdeckels angebrachten kreisrunden Öffnung; der Luftmantel hängt so in dem dickwandigen Batterieglase (Kühlbad), das zur Aufnahme der Kühlmischung bestimmt ist. Eine kleinere seitliche Durchbohrung des Deckels trägt das bis zu halber Höhe des Batterieglases reichende, in ganze — besser halbe — Grade geteilte Thermometer Th, das die Temperatur der Kühlmischung angibt. Eine weitere ebensolche Öffnung des Deckels ist zur Aufnahme eines starkwandigen Probierrohres mit Impfperlen (s. S. 143) bestimmt. Der geräumige mondförmige Ausschnitt des Deckels ermöglicht eine ausgiebige Bewegung

[1]) Die Trockenvorrichtung ist für kryoskopische Versuche überflüssig und kann bei diesen entfernt werden.

des aus sehr starkem Kupferdrahte bestehenden Handrührers DR, durch die die Kühlmischung ihrer ganzen Menge nach auf gleicher Temperatur erhalten werden soll. Die mittlere Erweiterung dieses großen Ausschnitts ermöglicht die unmittelbare Abkühlung des aus dem Luftmantel genommenen Gefrierrohres in der Kühlmischung. Der obere Teil des Gefrierrohres trägt den Elektromagneten E, dessen Pole mit Tuch bekleidet sind und durch eine Schraube fest an die Gefäßwandungen gelegt oder entfernt werden können, so daß der Elektromagnet leicht in jeder erforderlichen Höhe an dem Gefriergefäße befestigt werden kann. Bei niedriger Stellung des Elektromagneten ist die Bewegung des von ihm angezogenen eisernen Rührerringes klein, bei höherer größer. Als Stromquelle dient der Akkumulator A; in den Stromkreis ist das Metronom U eingeschaltet, das als Unterbrecher dient und mit dessen Hilfe eine genau bestimmte Anzahl Unterbrechungen in der Zeiteinheit bewirkt werden können. Sobald man das Metronom in Gang bringt, wird der Stromkreis abwechselnd geschlossen und geöffnet; der Strom hebt durch die elektro-magnetische Einwirkung auf den emaillierten Eisenring den Rührer, bei jeder Unterbrechung fällt der Rührer, so daß die Bewegung des Unterbrechermetronoms bei sonst geschlossenem Stromkreise eine fortwährende Bewegung des Rührers in dem gerade erwünschten Takte vermittelt. Diese Einrichtung ermöglicht ein gleichmäßiges Rühren im luftdicht verschlossenen Raume, also vor allem bei Abschluß der Luftfeuchtigkeit, was für Versuche mit wasseranziehenden Stoffen besonders wichtig ist. Bei kryoskopischen Versuchen kann ebensogut ein durch Uhrwerk in Bewegung gesetzter Rührer verwendet werden, wenn man nicht den ursprünglichen Handrührer seiner Einfachheit halber bevorzugt.

Durch den kryoskopischen Versuch soll die

Gefrierpunktserniedrigung einer Flüssigkeit auf hundertstel Grade genau festgestellt werden. Man muß sich dazu eines geeigneten Thermometers bedienen und verwendet für unsere Versuche — bei denen es sich um Wasser und wässerige Lösungen handelt — entweder ein Thermometer mit festem 0-Punkt und entsprechender Teilung (etwa von $-3{,}5^0$ bis $+1{,}5^0$) oder ein Beckmannsches Thermometer, dessen Teilung hundertstel Grade angibt, das aber einen festen 0-Punkt nicht besitzt und daher bei den verschiedensten Temperaturen eingestellt und benützt werden kann. Das ist bei dem hohen Preise solcher feiner Thermometer für den Chemiker, der mit den verschiedensten Flüssigkeiten zu tun hat, besonders wertvoll. Dabei muß vorweg bemerkt werden, daß auch bei den Thermometern mit festem 0-Punkt dieser sich mit der Zeit ändert, also bei jedem Versuche der wahre 0-Punkt neu einzustellen ist. Es handelt sich — welches Thermometer man auch benützen mag — jedesmal darum, den Unterschied zwischen dem Gefrierpunkt des reinen (destillierten) Wassers und dem der zu untersuchenden physiologischen Flüssigkeit festzustellen, und dazu muß man jedesmal die erforderlichen verschiedenen Versuche anstellen.

Das Beckmannsche Thermometer besitzt ein großes Quecksilbergefäß, dessen Kapillare oberhalb der Skala umgebogen ist und dort einen nach unten gerichteten etwas erweiterten zylindrischen Teil trägt, dessen Ende als Kapillare wieder nach oben gerichtet und in gewohnter Weise geschlossen ist. Wird das Thermometer erwärmt, so steigt das Quecksilber in der Kapillare, tritt in den erweiterten Teil von oben ein, füllt ihn von oben her je nach dem Wärmegrade zu einem kleineren oder größeren Teile aus und kann durch leichtes Anschlagen des Thermometers gegen die flache Hand zum Abfallen

von dem die Kapillare erfüllenden Quecksilberfaden in den unteren Teil der als Reserveraum dienenden zylindrischen Erweiterung gebracht werden. Das im eigentlichen Thermometer verbleibende Quecksilber steht jetzt noch höher als die Skala. Man muß also das „Abklopfen" des überschüssigen Quecksilbers bei einem Wärmegrade vornehmen, der um ein Bestimmtes höher liegt als der gewünschte. Der Unterschied läßt sich leicht ermitteln; gewöhnlich ist auf den Thermometern vermerkt „Abklopfen in um . . ^{0}C erhöhter Temperatur". An den von Dr. Siebert & Co. zu Cassel in den Handel gebrachten Thermometern ist der Reserveraum mit einer Hilfsteilung versehen, die unmittelbar angibt, bei welchem Stande für das Arbeiten bei bestimmten Temperaturen abgeklopft werden muß. Will man ein für den Gebrauch etwa bei 17^0 abgeklopftes Thermometer später etwa für 0^0 benützen, so muß man erwärmen, bis das Quecksilber von oben her in den Reserveraum gestiegen ist, alsdann vereinigt man durch Umdrehen des Thermometers und zartes Klopfen den abgefallenen Teil des Quecksilbers mit der Hauptmenge, läßt erkalten und verfährt wie bei einer neuen Einstellung. Das fertig eingestellte Thermometer soll bei der Gefriertemperatur des Lösungsmittels (Wasser) den höchsten Stand des Quecksilbers seiner Kapillare im oberen Teile der etwa 5^0 umfassenden Skala zeigen.

Zur Anstellung eines Versuches ist das Gefriergefäß mit soviel der zu untersuchenden Flüssigkeit zu beschicken, daß diese bis eben über das Quecksilbergefäß des Thermometers reicht (5—10 ccm je nach der Länge des Quecksilbergefäßes). Bei dem Vergleiche der Gefrierpunkte verschiedener Flüssigkeiten, wie in unserem Falle, ist stets dieselbe Flüssigkeitsmenge zu verwenden. Nach Einführung des Rührers muß das Thermometer durch den Kork immer in der-

selben Weise befestigt werden, so daß es in gleichem Maße in die Flüssigkeit eintaucht. Man beschickt jetzt das Batterieglas mit einer Mischung von Wasser und Eisstückchen, der man soviel Kochsalz hinzufügt, daß nach dem Mischen die Temperatur 2—3^0 unter der zu erwartenden Gefriertemperatur des Untersuchungsobjektes liegt. Um die Wärmeabgabe nach außen zu beschränken, kann man das Batterieglas mit einer Hülle von dickem Filze versehen. Die Kühlmischung muß höher hinaufreichen als der Flüssigkeitsspiegel im Gefrierrohre. Sie ist, entsprechend dem fortschreitenden Schmelzen des Eises, erforderlichenfalls nach dem Abhebern eines Teiles, durch Zusatz von Eis und Kochsalz sowie Rühren möglichst auf gleicher Temperatur — jedenfalls innerhalb eines Grades gleichbleibend — zu erhalten. Man setzt nun den elektromotorischen Rührer in Betrieb, so daß auf 10 Sekunden etwa 15 Hin- und Herbewegungen des Rührers kommen. Durch Heben oder Senken des Elektromagneten stellt man die Hubhöhe des Rührers so ein, daß sein oberer Ring beim Heben noch in der Flüssigkeit bleibt, aber die Oberfläche fast erreicht. Um den annähernden Gefrierpunkt zu ermitteln, nimmt man nun das Gefrierrohr aus dem äußeren Luftmantel und taucht es, während der Rührer im Gange erhalten wird, durch den erweiterten Teil im mondförmigen Ausschnitte des Kühlgefäßes in die Kühlmischung. Sinkt die Temperatur im Gefriergefäße um mehr als etwa 0,5^0 unter die zu erwartende Gefriertemperatur, ohne daß das Thermometer durch Ansteigen ein beginnendes Gefrieren anzeigt, so muß dieses durch Impfen eingeleitet werden.

Das Impfen geschieht mit Hilfe runder, 2,5 bis 3 mm Durchmesser besitzender Stickperlen aus Glas, die man mit dem Lösungsmittel benetzt; durch Evakuieren des Gefäßes gelingt es sicher die Faden-

öffnung mit dem Lösungsmittel zu füllen. Darauf gießt man den Überschuß des Lösungsmittels ab und kühlt das die Perlen enthaltende starkwandige Probierrohr in der Kühlmischung des Batterieglases oder einer besonderen Kühlmischung von noch niedrigerer Temperatur bis zum Erstarren der Flüssigkeit in den Fadenöffnungen der Perlen ab. Alsdann bringt man das Probierrohr mit den Impfperlen durch die dafür bestimmte Öffnung im Deckel des Batterieglases in dessen Kühlmischung und bewahrt sie dort zum Gebrauche. Zum Einimpfen werden mit einem Glasstabe, Glasrohre oder Holzstabe einige Perlen abgelöst und durch den Rohrstutzen des Gefrierrohres in dieses eingeführt. Alsbald beginnt der Quecksilberfaden des Thermometers zu steigen, erst lebhafter, dann langsamer, um einen höchsten Stand zu erreichen, bei dem er einige Zeit stehen bleibt. Diesen höchsten Stand liest man als angenäherten Gefrierpunkt ab.

Wird der Versuch mit reinem Wasser ausgeführt, so bleibt die Temperatur auch bei vermehrter Eisbildung gleich; liegt aber eine Lösung (Harn, Serum) vor, so vergrößert sich durch die Eisabscheidung deren Gehalt an Gelöstem, was eine Erniedrigung des Gefrierpunktes, also ein Fallen der Temperatur zur Folge haben muß.

Zur genauen Bestimmung des Gefrierpunktes nimmt man das Gefriergefäß aus dem Luftmantel, läßt das ausgeschiedene Eis in der Zimmerwärme oder durch kurzes Berühren mit der Hand eben auftauen, setzt das Gefriergefäß dann sofort wieder in den Luftmantel ein und wiederholt den Versuch, indem man genau bei 0,5° Unterkühlung[1]) das

[1]) Die erforderliche Unterkühlung schwankt bei den verschiedenen Lösungsmitteln zwischen 0,5° und weniger bis 1° C; bei Wasser beträgt sie zweckmäßig 0,5°.

Impfen ausführt und darauf den Gefrierpunkt feststellt. Am besten wiederholt man den Versuch noch zweimal und nimmt, falls die Ergebnisse auf 0,01 °C übereinstimmen, das Mittel aus den drei gefundenen Zahlen. Diese sind nur dann sicher und übereinstimmend, wenn sie unter genau übereinstimmenden Bedingungen gewonnen worden waren. Unter solchen bestimmt man also einerseits den Gefrierpunkt der zu untersuchenden Flüssigkeit, anderseits den des Wassers (Lösungsmittels); durch Bildung der Differenz erhält man die **Gefrierpunktserniedrigung.** Ist die zu untersuchende Flüssigkeit bereits einige Zeit mit der Luft in Berührung gewesen, so wird man die Gefrierpunktsbestimmung mit solchem Wasser (Lösungsmittel) vornehmen, das auch an der Luft gestanden hat.

Der wahre Gefrierpunkt einer Flüssigkeit, d. h. diejenige Temperatur, bei welcher der abgesonderte feste Bestandteil und die Flüssigkeit miteinander im Gleichgewichte sind, wird nach Nernst und Abegg am sichersten erhalten, wenn das Kühlbad die sogenannte Konvergenztemperatur besitzt. Als Konvergenztemperatur bezeichnet man die Temperatur, der die Lösung zustreben würde, wenn kein Gefrieren stattfände. Sie wird nach Beckmann folgendermaßen bestimmt: Man verwendet ein Kühlbad, dessen Wärmegrad je nach der Außenwärme 1—2° unter dem voraussichtlichen Gefrierpunkte der zu untersuchenden Flüssigkeit liegt und stellt die Temperatur fest, bei der sich das Thermometer unter ständigem Rühren ohne Impfen einstellt, z. B. — 1,2°. Nun impft man und bestimmt den Gefrierpunkt, z. B. —0,5°. Daraus ergibt sich, daß die Konvergenztemperatur um 0,7° unter der Gefriertemperatur liegt.

XI. Aufträge zu chemischen Untersuchungen und deren Erledigung.

Wer eine Untersuchung zu übernehmen beabsichtigt, muß sich zunächst die Frage vorlegen, ob er imstande ist sie auszuführen, und zwar so, daß das Ergebnis den Zwecken des Auftraggebers entspricht, ihn befriedigt, oder doch ihn befriedigen würde, wenn er sachverständig wäre. Die Übernahme einer Untersuchung muß als Arbeitsvertrag angesehen werden. Der Arbeitgeber will eine bestimmte Leistung erzielen, die ihm von seiten des Arbeitnehmers ausdrücklich oder stillschweigend durch die Übernahme des Auftrages zugesichert wird. Treu und Glauben im allgemeinen Verkehr erfordern jedenfalls, daß der Arbeitnehmer den von ihm angenommenen Auftrag streng im Sinne des Auftraggebers und mit aller erforderlichen Sorgfalt und Umsicht ausführt. Deshalb ist es die erste Pflicht den Auftrag darauf zu prüfen, ob man imstande ist, ihn richtig auszuführen. Die Prüfung erstreckt sich nach zwei Seiten, man hat festzustellen 1. was will der Auftraggeber? und danach 2. kann diesem Willen Genüge geleistet werden? Die erste Frage wird mehr oder minder leicht zu beantworten sein, wenn ein schriftlicher Auftrag vorliegt, z. B. „ich bitte den Harn auf Eiweiß und Zucker zu untersuchen". Hier ist klar ausgesprochen, was der Auftraggeber will, und es empfiehlt sich, wenn man den Auftrag anzunehmen wünscht, ebenso klar und deutlich die Gegenforderung zu formulieren: „Die Untersuchung wird so und soviel kosten, das Gutachten kann gegen Erstattung der Kosten dann und dann abgeholt werden." Erfolgt kein Widerspruch, so ist der Vertrag abgeschlossen und muß erfüllt werden. Darüber aber, ob man die betreffende Untersuchung sachgemäß ausführen kann, muß man sich schon beim Eingehen auf den Untersuchungsantrag klar

geworden sein. Es würde eine schwere Verfehlung gegen Treu und Glauben sein, wenn man eine Untersuchung annehmen wollte, der man nicht gewachsen ist. Eine derartige Verfehlung kann sich bitter rächen und nicht allein am eigenen guten Rufe. Man sei daher vorsichtig und nehme nur solche Aufträge an, die man mit gutem Gewissen sachgemäß erledigen kann. Hat man Zweifel, so teile man sie offen dem Auftraggeber mit; drängt dieser trotzdem auf Übernahme der Untersuchung, so gebe man dem Drängen nur dann nach, wenn man entschlossen ist, sein ganzes Wissen und Können in den Dienst der übernommenen Aufgabe zu stellen und ihre Ausführung mit aller möglichen Vorsicht und Sorgfalt zu versuchen.

Stets ist der Wortlaut des Auftrags maßgebend für die verlangte Leistung. Das ist natürlich nicht engherzig zu verstehen. Hat man z. B. für die Untersuchung eines Harnes auf Eiweiß und Zucker einen Preis vereinbart und teilt dafür in dem Gutachten auch noch das spezifische Gewicht sowie die Angaben über Reaktion, An- oder Abwesenheit von Azetessigsäure, Gallenfarbstoffen oder dergleichen mit, so ist das eine das Bild vervollständigende Abrundung, gegen die kein Auftraggeber etwas einzuwenden haben wird. Das aber, was man mitteilt, muß unbedingt zuverlässig sein, auch wenn die Arbeit, auf der die Mitteilung beruht, nicht besonders bezahlt wird. Unzulässig erscheint es, ohne Einwilligung des Auftraggebers Arbeiten auszuführen, für die man nachträglich ein besonderes Honorar beansprucht. Jede im Laufe einer Untersuchung etwa notwendig oder nützlich erscheinende Überschreitung des erhaltenen Auftrages muß vom Auftraggeber genehmigt sein, bevor auf Grund der geleisteten Arbeit Mehransprüche an ihn berechtigt sind. Am besten ist es, Leistung und Gegenleistung von vorn-

herein sorgfältig festzustellen und auch die Grenzen für mögliche Mehrforderungen zu vereinbaren. Liegt z. B. der mehrerwähnte Auftrag vor, einen Harn auf Eiweiß und Zucker zu untersuchen, so wird man gut tun, bei Entgegennahme des Auftrags den Preis für die qualitative Untersuchung zu nennen, aber hinzuzufügen, wieviel mehr bei Ausführung der quantitativen Bestimmung eines oder beider Bestandteile nach den hierbei gleich kurz zu bezeichnenden Methoden (nach Esbach, gewichtsanalytisch bezw. polarimetrisch oder titrimetrisch usw.) für die Arbeit zu berechnen sein würde. Gewöhnlich hat der Auftraggeber keine Ahnung von dem Umfange der zu leistenden Arbeit oder der Kostspieligkeit der erforderlichen Geräte, so daß eine Aufklärung nach dieser Richtung für ihn lehrreich ist und meist mit Dank entgegengenommen wird. Schließlich kann sich kein Mensch der Einsicht verschließen, daß jede Arbeit ihres Lohnes wert ist und nur um diesen Lohn beansprucht werden darf. Ist darüber eine Einigung erzielt, so ist jedem nachträglichem Streite so weit als möglich vorgebeugt.

Kleinere Aufträge geschehen vielfach mündlich, ja selbst in der Form, daß kein Wortlaut eines Auftrags vorliegt, sondern nur ein bestimmter Gegenstand übersendet wird, z. B. Harn. Nur aus der Form der Übersendung ist ein Auftrag ersichtlich und man wird gut tun, besonders bei leicht zersetzlichen Gegenständen, dem ersichtlichen Wunsche Folge zu leisten, die Untersuchung nach dem allgemeinen Muster — aber nicht darüber hinaus — auszuführen und den üblichen Preis zu berechnen. In dem gewählten Beispiele bestimmt man das, was gewöhnlich bestimmt wird, also etwa an der Hand eines gedruckten oder autographierten Formulars für Harnuntersuchungen:

Menge, Farbe, Geruch, Klarheit

Reaktion gegen Lackmuspapier
Spezifisches Gewicht
  Trockensubstanz nach Haeser
Eiweiß
  Albumin
  Globulin
Zucker
Gallenbestandteile
Trübende Bestandteile
Besondere Bestimmungen

Auch in diesem Falle muß jede Ermittelung zuverlässig ausgeführt sein, wie es der Ehre und den Fachkenntnissen des Untersuchenden entspricht, selbst wenn die Gefahr vorliegen sollte, daß man pro nihilo gearbeitet hat. Übrigens lehrt die Erfahrung, daß diese Gefahr äußerst selten ist. Immer ist es besser, einen klar ausgedrückten Auftrag zu erzielen und diesen zu erfüllen.

Die Erfüllung eines jeden Auftrages, also auch eines solchen auf chemische Arbeiten, hat stets im Sinne des Auftraggebers zu geschehen, sein Interesse ist für die ganze Arbeit maßgebend. Wer nicht imstande ist, nach diesem leitenden Grundsatze zu handeln — etwa weil verschiedene Interessen sich entgegenstehen — der lehne die betreffende Arbeit ab. Glücklicherweise ist eine solche Kollision auf unserem Gebiete der medizinisch-chemischen Untersuchungen, wo es sich um Feststellung einfacher Tatsachen handelt, kaum denkbar. Im allgemeinen werden hier die gestellten Aufgaben den Zweck einer Feststellung oder Erleichterung der ärztlichen Diagnose haben, es werden daher bestimmte Aufträge sich wiederholen und zur Ausbildung bestimmter, der betreffenden Fragestellung entsprechender Muster für die Bearbeitung führen. Man kann das vorliegende Buch als eine Zusammenstellung des Materials für derartige Muster ansehen. Eine solche Zusam-

menstellung überhebt aber den arbeitenden Chemiker niemals der Pflicht, seine Fälle selbst zu prüfen, selbst zu beobachten und sogar das selbst für die Mehrzahl seiner Fälle etwa ausgearbeitete Muster jedem Sonderfalle entsprechend anzuwenden, umzuformen und zu erweitern. Aus diesem Grunde erschien es nicht angebracht, für jeden möglichen Auftrag einen vollständigen Analysengang oder ein Formular zur Begutachtung mitzuteilen. Das würde die eigene Geistesarbeit des ausführenden Chemikers eingeschränkt, ihn und die Ausführung seiner Arbeiten gleichsam handwerksmäßig herabgedrückt haben. Solange die Ansichten, Ansprüche und Bedürfnisse der Ärzte noch so vielseitig sind, wie — glücklicherweise — zur Zeit, so lange sie sich den Fortschritten der Wissenschaft entsprechend noch so umwandeln, wie gegenwärtig, wird jeder „vollständige" Analysengang unvollständig bleiben oder unausführbar lang werden müssen, wenigstens auf dem Papiere. Der denkende Chemiker hält sich an den Wortlaut seines Auftrages, der ist ihm maßgebend und eine häufige Wiederholung desselben Auftrages wird immer nur lokal bleiben. Abänderungen bilden sich stets heraus, sowohl im Auftrage wie in dessen zeitgemäßer Ausführung.

Die Erfüllung eines Auftrages umfaßt wesentlich zwei verschiedene Aufgaben, nämlich die Ausführung der erforderlichen Untersuchungen und die Erstattung des Gutachtens. Die Untersuchungen müssen stets zuverlässig und mit Hilfe der besten bekannten Methoden ausgeführt sein. Wenn möglich bestätige man jeden Befund durch Anstellung verschiedener Reaktionen, bei quantitativen Bestimmungen durch Ausführung von Doppelanalysen, die übereinstimmen müssen und aus denen dann das Mittel genommen wird. Stimmen die Ergebnisse zweier Arbeiten nicht überein, so liegt die Vermu-

tung nahe, daß bei einer ein Fehler sich eingeschlichen hat, den man durch weitere Arbeit zu ermitteln und auszumerzen hat. Das Gutachten sei richtig, klar und verständlich. Um verständlich zu sein, muß das Gutachten als selbständiges Ganzes abgefaßt sein. Es beginne stets mit der Geschichte seiner eigenen Entstehung, also etwa: Am (Dat.) wurde dem Unterzeichneten von (Auftraggeber) eine Flasche Harn übermittelt mit dem Auftrage, das Objekt auf Eiweiß und Zucker qualitativ zu untersuchen und zutreffendenfalls den Zucker seiner Menge nach polarimetrisch zu bestimmen . . ." Diese Einleitung führt jedem Leser des Gutachtens — also auch dem in Streitfällen entscheidenden Richter — sofort Ziel und Zweck des Auftrags vor und ermöglicht dem Sachverständigen ein Urteil darüber, ob der Wille und das Interesse des Auftraggebers maßgebend geblieben sind bei Erfüllung des Auftrags; sie ist unerläßlich, wenn das Gutachten ein selbständiges Ganzes sein soll. Auf die Einleitung folgen Untersuchungsbericht und Schlußfolgerungen. Abgesehen von gerichtlichen Fällen wird der Untersuchungsbericht stark eingeschränkt werden können, ist er doch an sich dem Laien ziemlich unverständlich und wird auch vom Auftraggeber fast nie beansprucht. Von um so größerer Wichtigkeit sind die Schlußfolgerungen. Man fasse sie besonders klar, vermeide jedes unnötige Wort, jede Vermutung. Man drücke genau das aus, was aus den Ergebnissen der Untersuchung geschlossen werden muß, nicht mehr und nicht weniger. Zweckmäßig ist es, bei jeder Angabe kurz das Verfahren anzudeuten, nach dem die Ermittelung stattgefunden hat; das ersetzt meist ausreichend einen umständlichen Untersuchungsbericht und gestattet ein Urteil über den Wert des betreffenden Gutachtens. Dieser Punkt ist in Streitfällen von Wichtigkeit, aber auch sonst muß es das

Streben eines jeden Experten sein, daß sein Gutachten sich sehen lassen kann. Aus der Fassung des Gutachtens kann meist schon beurteilt werden, ob der Experte seinen Gegenstand beherrscht hat oder nicht. Vielfach begegnet man der Ansicht, daß die genaue Ausführung der Untersuchung die Hauptsache sei, und das ist an sich richtig. Falsch würde es aber sein, wollte man dem Gutachten einen minderen, sozusagen nebensächlichen Wert beimessen. Gerade das Gutachten übermittelt die Untersuchungsergebnisse an den Auftraggeber. Das aber muß in klarer Form und ebenso genau geschehen, wie die Ausführung der Untersuchung. Wichtig ist es auch, daß das Gutachten in Haltung und Wortlaut sich dem Auftrage anschließt, ihn vom Standpunkte des Untersuchenden erläutert und im Sinne des Auftraggebers erfüllt, denn das ist der Zweck des Gutachtens.

Praktisch wichtig für jeden im Leben stehenden Gutachter ist noch die geordnete Handhabung seines Schreib- und Untersuchungswesens. Es empfiehlt sich, über alle einlaufenden Untersuchungen Buch zu führen, von allen Gutachten Abschriften oder Abdrücke zurückzubehalten, doch kann auf diese Fragen der geschäftlichen Einrichtung hier nicht näher eingegangen werden.

Register.

A.

F.

G.

H.

L.

M.

N.

O.

P.

Q.

R.

S.

T.

U.

V.

W.

X.

Z.

